UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1933-1934. — N° 239

Recherches biochimiques sur le Glycogène des Invertébrés

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

présentée et soutenue publiquement le Mercredi 21 Mars 1934

PAR

Jeanne-Marguerite CHAIGNE

PHARMACIEN

Née à LÉOGNAN (Gironde), le 19 décembre 1906.

Examinateurs de la Thèse :

MM. DELAUNAY, professeur..... *Président.*

CHELLE, professeur.....

R. SIGALAS, professeur..... *Juges.*

VITTE, agrégé.....

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ

Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR

6, Place Saint-Christoly

1934

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1933-1934. — N° 239

Recherches biochimiques sur le Glycogène des Invertébrés

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

présentée et soutenue publiquement le Mercredi 21 Mars 1934

PAR

Jeanne-Marguerite CHAIGNE

PHARMACIEN

Née à LÉOGNAN (Gironde), le 19 décembre 1906.

Examinateurs de la Thèse	MM. DELAUNAY, professeur.....	*Président.*
	CHELLE, professeur.....	*Juges.*
	R. SIGALAS, professeur	
	VITTE, agrégé.....	

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ

Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR

6, Place Saint-Christoly

1934

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS..... Doyen.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. POUSSON, MOURE, W. DUBREUILH, RIVIÈRE, BARTHE, DENIGÈS, AUCHÉ, SELLIER, BEILLE, CASSAËT

PROFESSEURS

	MM.		MM
Clinique médicale	MAURIAC.	Zoologie et parasitologie	MANDOUL.
id.	DUPÉRIÉ.	Médecine expérimentale	N.
Clinique chirurgicale	CHAVANNAZ.	Clinique ophtalmologique	TEULIÈRES.
id.	BÉGOUIN.	Clinique chirurg. infantile et orthopédie	ROCHER.
Pathologie et thérapeutiques générales	CARLES.	Clinique gynécologique	GUYOT.
Clinique d'accouchements	ANDÉRODIAS.	Clinique méd. des maladies des enfants	CRUCHET.
Anatomie pathol. et microscopie clinique	SABRAZÈS.	Chimie biologique et médicale	DELAUNAY.
Anatomie	VILLEMIN.	Physique médicale et pharmaceutique	SIGALAS.
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques	BONNIN.
Physiologie	PACHON	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	PETGES.
Hygiène	LEURET.	Clinique des maladies des voies urinaires	DUVERGEY
Médecine légale et déontologie	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médic.	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Chimie	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT.
Botanique et matière médicale	GOLSE.	Hydrologie thérapeutique et climatologie	CREYX.
Pharmacie	DUPOUY.	Clinique dentaire	CAVALIÉ.

MM. MICHELEAU (Médecine générale). MURATET (Anatomie pathologique). LACOSTE (Histologie). PERY (Obstétrique). PERRENS (Maladies mentales). PAPIN (Chirurgie générale). R. SIGALAS (Parasitologie et sciences naturelles). JEANNENEY (Chirurgie générale).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie	DUBECQ.	Chirurgie générale	CHARRIER.
id.	DUFOUR.	id.	LOUBAT.
Physiologie	FABRE.	Obstétrique	RIVIÈRE.
Médecine générale	AUBERTIN.	Ophtalmologie	BEAUVIEUX
id.	DAMADE.	Physique médicale	WANGERMEZ.
id.	PIÉCHAUD.	Dermatologie et syphiligraphie	JOULIA.
id.	DELMAS-MARSALET.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
id.	DE GRAILLY.	Chimie générale pharmaceut. et toxicologie	VITTE
id.	FONTAN.		

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	PAPIN.	Puériculture	FAUGÈRE.
Physiologie	FABRE.	Démonstrations et préparations pharmac.	N.
Pathologie médicale	DELMAS-MARSALET.	Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.
Accouchements	RIVIÈRE.		

Ophtalmologie		MM. CABANNES (en congé).
Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes.		N.
Cours complémentaire annexe. — Prothèse et rééducation professionnelle		GOURDON.
id.	Clinique dentaire	DELGUEL.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MA MERE — A MON PERE

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MES MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE

ET DE PHARMACIE

A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur H. DELAUNAY

Professeur de chimie biologique
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux,
Membre correspondant de la Société de Biologie,
Docteur ès Sciences,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.

Ma reconnaissance s'adresse au Maître qui m'a accueillie dans son laboratoire avec la plus grande bienveillance, qui a bien voulu inspirer et diriger ce travail. Il m'a toujours témoigné la plus vive sollicitude et m'a guidée dans mes recherches avec bonté. Qu'il reçoive ici l'expression de ma profonde gratitude.

RECHERCHES BIOCHIMIQUES

SUR LE

GLYCOGÈNE DES INVERTÉBRÉS

INTRODUCTION

Les travaux entrepris jusqu'à ce jour sur le glycogène des Invertébrés sont assez nombreux, mais s'ils nous ont fait connaître la présence fréquente de ce corps chez les êtres inférieurs, ils ne nous disent rien ou bien peu de chose sur sa destinée et sur le rôle physiologique qu'il joue. La localisation du glycogène dans le foie et le muscle, chez les Homéothermes, et sa rapide diminution dans le cas d'augmentation de la dépense énergétique ont bien mis en évidence le rôle de premier plan que joue le glycogène comme source d'énergie chimique potentielle, rapidement utilisable pour produire du travail et de la chaleur. La doctrine de Claude Bernard, suivant laquelle le glycogène hépatique représente la principale source du sucre sanguin, et le glycogène musculaire, le combustible le mieux utilisé pour la libération d'énergie, est classique. Mais en étendant la recherche du glycogène aux êtres inférieurs ainsi qu'à l'embryon, dont la dépense est faible, on s'est vite aperçu que le rôle énergétique du glycogène n'est pas le seul et que cette matière joue certainement un autre rôle. Un des premiers, Rouget a attiré l'attention sur ce point. Il a considéré la glycogénèse

non pas comme une fonction spécialisée réservée à un seul organe ou à un tissu, mais comme une fonction générale commune à tous les tissus en voie de développement. A l'appui de cette opinion, on peut citer la présence du glycogène dans les levures croissant activement sur milieu glucose (Pasteur, Errera, Nægeli, etc.), dans certains Champignons (G. Clautriau, 1895), dans les tissus épithéliaux des surfaces cutanées et muqueuses et dans les muscles de l'embryon au début de la gestation (Claude Bernard, 1859), dans les tumeurs qui s'accroissent rapidement (Brault), etc.

Dans une note parue en 1872 à l'Académie des Sciences (sur la formation de la matière glycogène chez les animaux), Claude Bernard a insisté sur l'importance du glycogène dans le développement des êtres organisés.

« L'existence de la matière glycogène, dit-il, est à la fois une condition de nutrition et de développement des êtres organisés, car je considère que ces deux actes physiologiques fondamentaux (nutrition et développement) rentrent dans le même ordre de phénomènes, et que cette nutrition est une sorte de génération spontanée. »

Il dit encore :

« J'ai constaté l'existence de la matière glycogène non seulement dans l'œuf de Poule, mais aussi dans les œufs d'Insectes et de Mollusques, de telle sorte qu'il semblerait que cette matière est une partie constituante essentielle du germe. »

En 1878, dans le tome I de ses *Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux*, Claude Bernard, après avoir insisté sur la diffusion de la substance glycogène dans un grand nombre de tissus embryonnaires avant sa localisation dans le foie, signale que :

« Chez les êtres inférieurs qui n'ont pas de foie, la fonction glycogénique reste toujours diffuse, comme chez les végétaux. Chez certains animaux, comme chez les Crustacés, cette fonction est intermittente et correspond aux périodes de mue, comme elle correspond à la végétation chez les plantes. »

Sur les conseils de M. Delaunay, nous avons entrepris une longue série de recherches sur les variations du glycogène dans les organes des Invertébrés en partant de cette idée directrice que le glycogène joue vraisemblablement chez les êtres un rôle plastique important encore mal connu. Dans ce but, nous avons choisi un certain nombre d'Invertébrés communs appartenant aux principales classes, et nous avons systématiquement soumis à l'analyse leurs organes et tissus à diverses périodes de l'année. Nous pensions pouvoir tirer des renseignements intéressants par l'étude des variations saisonnières du glycogène. Notre espoir n'a pas été déçu en ce sens que nous avons pu mettre en évidence un fait dont il est inutile de signaler l'importance biologique : la surcharge en glycogène des organes reproducteurs des Invertébrés pendant leur développement et au moment de la ponte.

L'exposé de notre travail a été fait d'après le plan suivant :

Le chapitre I comprend un aperçu historique rapide de notre sujet. Dans le chapitre II, on trouvera la liste des animaux étudiés, le mode de prélèvement des tissus et notre technique de dosage. Nous avons adopté la méthode de Pflüger à laquelle nous avons fait subir quelques légères modifications. Dans le chapitre III, nous avons exposé les travaux entrepris précédemment pour chaque espèce animale en suivant l'ordre zoologique. Nous les avons fait suivre de nos recherches personnelles. Dans un dernier chapitre, nous avons essayé, en nous basant sur les faits déjà acquis et sur les résultats que nous avons obtenus, de dégager leur signification au point de vue biologique.

CHAPITRE PREMIER

APERÇU HISTORIQUE

Dès le début de ses recherches sur l'évolution des matières hydrocarbonées dans l'organisme animal, Claude Bernard s'est intéressé à la question du glycogène chez les Invertébrés. Ses premiers travaux remontent à 1859. Il a recherché le glycogène par des procédés histochimiques, et l'a dosé après isolement. C'est ainsi qu'il a signalé la présence en quantité notable du glycogène chez les Huîtres, les larves de Mouches, les Chenilles, les Vers de terre, les Vers intestinaux (Vers parasites de l'homme et des animaux), dans les œufs des Insectes et des Mollusques. Ses recherches sur les Crustacés l'ont conduit à une découverte intéressante : la surcharge en glycogène de l'hépato-pancréas au moment de la mue, c'est-à-dire à l'époque de la formation de la nouvelle carapace; c'est ainsi que la quantité de glycogène contenue dans le foie de l'Ecrevisse varie beaucoup selon les saisons, le taux le plus élevé étant atteint juste avant la mue. Claude Bernard a fait également un grand nombre d'expériences sur les Mollusques; il a constaté la présence d'une quantité notable de glycogène chez les Gastéropodes (*Helix*, *Arion*), les Acéphales (Huîtres, Moules, Pectens).

D'autres recherches ont été entreprises parallèlement à celles de Claude Bernard.

Bizio (1866) a trouvé du glycogène chez *Ostrea edulis*, *Cardium edule*, *Mytilus edulis*, *Solen siliquæ* et *Pecten Jacobaeus*. Balbiani (1873) a signalé sa présence dans les embryons des Araignées. Krukenberg (1873) a caractérisé le glycogène par la méthode de Brücke dans le foie d'*Arion empiricorum* et d'*Helix pomatia*, ainsi que dans les œufs

de Fourmis. D'après Picard (1874), on trouve du glycogène chez les Echinodermes, les Holothuries, les Polypes, les Eponges, les Crustacés (Homard, Crabe tourteau) et les Mollusques Gastéropodes et Céphalopodes (Calmar, Seiche). Foster (1865) a étudié l'*Ascaris lumbricoïdes*, Chittenden le muscle de *Pecten*, et Kirch (1886) les tissus de l'Ecrevisse avec des résultats positifs. Certes a décelé le glycogène par des réactions microchimiques chez les Vorticelles, les Opalines, les Chilodons, les Amibes et les Rhizopodes, Barfürth (1885) a eu, en outre, le mérite de constater le glycogène chez les Infusoires non seulement par des réactions microchimiques, mais encore par l'analyse chimique, d'après la méthode de Brücke. Il a fait des recherches chez l'Escargot et le Limaçon et a constaté de grandes variations avec l'alimentation. Ses travaux sont importants en ce sens qu'ils laissent supposer le rôle prépondérant du foie comme organe de réserve chez les Invertébrés comme chez les Vertébrés, mais il a reconnu que le glycogène ne fait défaut dans aucune glande.

Le tableau suivant, de Barfürth, qui a utilisé les données de Krukenberg, indique les différentes espèces animales chez lesquelles on a rencontré du glycogène. Si dans ce tableau la présence du glycogène dans les Eponges et les Echinodermes est signalée, c'est d'après les données de Picard, car Krukenberg n'en a trouvé chez ces êtres que peu ou pas du tout.

Mollusques.	*Arthropodes.*	*Vers.*
Céphalopodes.	Arachnides.	Plathelminthes.
Gastéropodes.	Insectes.	Némathelminthes.
Lamellibranches.	Myriapodes.	Annelidés.
Tuniciers.	Crustacés.	Rotifères.
Echinodermes.	*Cœlentérés.*	*Protozoaires.*
Astéroïdes.	Eponges.	Rhizopodes.
Echinidés.	Anthozoaires.	Infusoires.
Holothuries.	Méduses.	Grégarines.
	Cténophores.	

Dans le deuxième tableau, Barfürth a classé les tissus dans lesquels il a trouvé du glycogène.

Cellules animales			Tissus conjonctifs. Sang et glandes sanguines	Epithéliums. Epithéliums cylindriques
Glandes	Muscles	Système nerveux		
Foie des Mollusques, des Arthropodes. Reins des Mollusques. Glandes salivaires des Gastéropodes. Glandes hermaphrodites. Glande albumineuse. Glandes du manteau et du pied des Gastéropodes.	Des Vers. Des Mollusques. Des Arthropodes.	Cellules ganglionnaires des Gastéropodes (traces).	Globules sanguins des Crustacés. Cellules conjonctives des Invertébrés. Cellules plasmatiques Cellules conjonctives et fibrilles de la substance conjonctive des Gastéropodes.	Epithéliums cylindriques des conduits excréteurs des Invertébrés. Epithéliums cylindriques du canal intestinal des Invertébrés.

Weinland (1901), Brault et Lœper (1904), Busch (1905). ont entrepris des travaux importants sur les Plathelminthes et les Némathelminthes, à l'aide de la méthode à l'iode. Ils ont trouvé une très forte proportion de glycogène chez les Vers parasites de l'Homme et des animaux, en particulier chez le Tænia du Mouton et du Chien. Pflüger et Starkenstein (1912) sont d'accord pour admettre la présence du glycogène chez les Mollusques Gastéropodes et Lamellibranches. D'après Henze (1905), le glycogène manque totalement chez les Céphalopodes. Henze et Starkenstein ont trouvé du glycogène chez *Aplysia limacina*, alors que Frenkzel, Röhmann et Bottazzi ont conclu à son absence. D'après Röhmann (1899) et Bottazzi, on trouverait dans le foie de l'Aplysie non pas du glycogène, mais un pentosane provenant de l'alimentation, l'Aplysie se nourrissant d'algues, riches en pentoses (*ulva lactuca*). Des recherches intéressantes ont été faites par Moore, Whitley et Adams (1913) chez l'Oursin de mer. Ils ont constaté qu'une grande partie des réserves de l'animal était utilisée pour la formation des produits

génitaux. Des travaux plus récents ont été entrepris par Kilborn et Mac Leod (1920) sur les Echinodermes : *Pisaster Ochraceus* et *Pycnopodia heliantoïdes*. L'hépato-pancréas de ces animaux est riche en glycogène. Ces mêmes auteurs ont aussi dosé le glycogène dans le muscle et l'hépato-pancréas des Crustacés (*Cancer productus* et *Homarus vulgaris*) et ont constaté des variations assez grandes dues sans doute à l'alimentation. L'hépato-pancréas et le muscle des Céphalopodes sont riches en glycogène. Boyland (1928) a surtout dosé le glycogène du muscle des Invertébrés. Il a étudié ses variations chez *Holothuria nigra*, *Lumbricus agricola*, *Palinurus vulgaris* et *Homarus vulgaris*, ainsi que chez les Lamellibranches (Pecten) et chez les Céphalopodes (*Sepia elegans*).

Il convient enfin de signaler les travaux récents et très intéressants de Brammertz et de Kurkiewicz (1928-1931) qui ont étudié la fonction glycogénique du noyau cellulaire au cours du développement des œufs d'Oursin. Ils ont utilisé la méthode de Best au lugol.

CHAPITRE II

TECHNIQUE

I. — *Animaux étudiés.*

Nous avons choisi de préférence des animaux appartenant à des espèces communes, de façon à pouvoir renouveler nos expériences à la même époque et à diverses périodes de l'année sur le même animal afin de déterminer les variations saisonnières.

La plupart des animaux qui ont été étudiés appartiennent à des espèces marines, d'autres sont terrestres, aussi leur genre de vie et leur alimentation sont-ils très différents. Les uns sont essentiellement carnivores (Astérie, Seiche), d'autres herbivores (Aplysie, Escargot, Limace), d'autres se nourrissent de matériaux nutritifs contenus dans le sable, la terre et la vase (Holothurie, Siponcle, Ver de terre); d'autres enfin, comme les Lamellibranches, trouvent leur alimentation dans les matières en suspension dans l'eau de mer.

Les animaux marins ont été capturés dans le Bassin d'Arcachon. La proximité de la Station biologique d'Arcachon nous a été à ce sujet d'un grand secours, et nous remercions vivement le Directeur de la Station biologique, M. le Professeur R. Sigalas, qui a mis à notre disposition les ressources des Laboratoires marins.

Les diverses espèces que nous avons étudiées sont les suivantes :

1° Echinodermes :

Asterias rubens L.;
Paracentrotus lividus Lamarck;
Holothuria tubulosa Gmelin.

2° Vers :

Arenicola piscatorum;
Sipunculus nudus L.

3° Crustacés :

Carcinus mœnas L.;
Astacus fluviatilis Rond.;
Crangon vulgaris;
Maja squinado Rond.

4° Mollusques :

A. *Lamellibranches :*

Gryphea angulata Lamarck;
Ostrea edulis.

B. *Céphalopodes :*

Sepia officinalis L.;
Sepia Filliouxi;
Octopus vulgaris.

C. *Gastéropodes :*

Aplysia punctata;
Aplysia fasciata;
Helix aspersa;
Arion rufus.

II. — *Récolte des matériaux d'étude.*

Plusieurs causes d'erreur provenant d'un mode défectueux de prélèvement peuvent altérer les résultats. La première est relative à l'état de l'animal. Il faut avoir soin d'opérer seulement sur des animaux bien vivants, et non sur des animaux à jeun depuis longtemps et sur le point de périr. De plus, les animaux doivent être placés dans leur milieu habituel, sans qu'ils aient eu à subir de modifications à leur genre de vie et à leur alimentation. Lorsque cela a été nécessaire, les prélèvements ont été faits sur les lieux mêmes de la pêche et immédiatement après la capture (en particulier pour la Seiche).

La deuxième cause d'erreur est plus difficile à éviter. Les prélèvements doivent être effectués dans un laps de temps très court, car, après la mort de l'animal, le glycogène peut être rapidement transformé en glucose et les résultats obtenus sont entachés d'erreur.

Comme il ne nous a pas été possible de faire les dosages sur place, nous avons conservé les organes en les fixant dans une quantité suffisante d'alcool à 95 degrés bouillant. L'usage de l'alcool bouillant n'est pas inutile. Certains organes, riches en diastases protéolytiques (foie de Seiche, par exemple), sont en effet capables de s'autolyser à froid, même en milieu alcoolique. On peut également conserver les organes prélevés dans une solution d'hydroxyde de potassium à 40 p. 100 en poids, portée à l'ébullition pendant dix minutes.

D'après Jean Mollaret, il ne devrait pas s'écouler plus de trois minutes entre le sacrifice de l'animal et la fixation de l'organe.

Les organes que nous avons étudiés le plus fréquemment sont : le foie, l'hépato-pancréas, le muscle, les organes génitaux et les œufs; mais nous avons également prélevé, lorsque cela nous a été possible, les branchies et les reins.

L'organe prélevé avec soin a été rapidement débarrassé de tous les tissus étrangers qui l'entourent : graisses, muscles. Il a été ensuite essoré avec du papier-filtre et pesé exactement. Les prises ont varié de 0 g, 50 à 2 grammes; elles ont été placées aussitôt dans l'alcool bouillant ou la solution d'hydroxyde de potassium.

Il arrive souvent que même le sacrifice de plusieurs animaux ne permette pas d'obtenir 1 gramme d'organe. Nous avons prélevé dans ces conditions des quantités inférieures, les manipulations restant les mêmes.

III. — *Recherches chimiques.*

Technique.

La première des conditions à remplir pour étudier la teneur en glycogène d'un tissu et ses variations à diverses époques

de l'année est de posséder une méthode de dosage d'une rigueur suffisante pour avoir des valeurs absolues correctes et des résultats toujours comparables entre eux.

Le nombre considérable de travaux entrepris en vue de l'élaboration d'une méthode précise de dosage du glycogène témoigne de l'importance de la question. Pflüger a fait la critique des procédés jusqu'alors en usage, et il a lui-même établi une méthode qui est à juste titre considérée comme la meilleure. C'est celle que nous avons suivie dans ses grandes lignes et que nous avons modifiée pour l'échelle microchimique.

Principe. — Cette méthode consiste à solubiliser d'abord dans la solution d'hydroxyde de potassium à 40 p. 100 les tissus à analyser, à précipiter le glycogène par l'alcool dans la liqueur alcaline, à l'isoler et à le transformer enfin en glucose après chauffage au bain-marie bouillant, en présence d'acide chlorhydrique. Le glucose est dosé suivant la méthode de Bertrand-Michaelis.

Le seul inconvénient de cette méthode est d'être assez longue (48 heures) et d'être assez délicate comme toutes les microméthodes chimiques.

1° Isolement et transformation du glycogène en glucose.

Premier temps : *Solubilisation du tissu dans l'hydroxyde de potassium.* — L'organe, dont le poids varie généralement de 0 g. 50 à 1 gramme, a été placé au moment de la récolte dans un tube à essai contenant de l'alcool à 95 degrés (8 cm³ par gramme d'organe) et porté à l'ébullition pendant une minute. Le tout est transvasé dans un tube centrifugeur en verre pyrex. Centrifuger pendant trois à quatre minutes à la vitesse de 2.000 à 3.000 tours. Lorsque les fragments du tissu se sont déposés en une masse adhérente au fond du tube centrifugeur, on décante par siphonage le liquide surnageant, généralement coloré en jaune, qui doit être très limpide. Les dernières traces d'alcool sont ensuite évaporées. Ajouter dans chaque tube environ 1 cm³ de solution d'hydroxyde de potassium à 40 p. 100 par gramme

d'organe. Le tube centrifugeur est porté dans un bain-marie bouillant. Pour éviter la concentration de la liqueur potassique pendant la solubilisation du tissu, nous avons utilisé un réfrigérant à air (tube en verre de 50 cm.) s'adaptant au col du tube centrifugeur par un ajutage rodé. Nous avons ainsi évité l'emploi du bouchon en caoutchouc qui est toujours plus ou moins attaqué par l'hydroxyde de potassium. Le bain-marie est maintenu à l'ébullition pendant deux heures, temps suffisant pour la solubilisation du tissu. Retirer les tubes à centrifuger du bain-marie. Laisser refroidir quelques minutes, puis ajouter 2 cm^3 d'eau distillée chaude. Centrifuger, pour se débarrasser, le cas échéant, des parties en suspension qui se déposent au fond du tube, alors que les graisses viennent à la surface. Celles-ci se solidifient par refroidissement et le liquide est alors décanté dans un autre tube centrifugeur. Ajouter 2 cm^3 d'eau chaude sur le dépôt qui est resté au fond du premier tube et qui servira au lavage. Centrifuger de nouveau. Le liquide surnageant est ajouté au liquide déjà obtenu. Cette solution est généralement colorée en jaune plus ou moins foncé. Si la décantation s'est mal faite, si des graisses ont surnagé après la centrifugation, on filtrera le liquide sur un petit filtre Berzélius plissé, préalablement lavé à l'eau bouillante, et qu'on lavera de nouveau avec 1 ou 2 cm^3 d'eau distillée chaude pour entraîner les dernières traces de glycogène adhérentes aux parois. Dans la plupart des cas, la centrifugation est suffisante pour l'obtention d'un liquide clair.

Deuxième temps : *Précipitation du glycogène par l'alcool.* — La solution est additionnée de deux fois son volume d'alcool à 95 degrés. Le tube, bien agité, puis recouvert, est laissé au repos pendant douze heures. Le précipité obtenu au bout de ce temps est généralement abondant, floconneux, blanc jaunâtre ou laiteux. Il est constitué par du glycogène retenant des produits azotés. Le précipité se dépose généralement au fond du tube centrifugeur, mais il adhère également aux parois. Centrifuger pour bien le rassembler au fond du tube. Siphoner le liquide surnageant, et laver le précipité avec de l'alcool à 66 degrés, puis à 95 degrés et enfin

avec de l'éther, en centrifugeant chaque fois. Après le dernier siphonage, évaporer complètement les traces d'éther. Par ces lavages répétés, on enlève en grande partie l'hydroxyde de potassium et les graisses qui souillent encore le glycogène. Celui-ci se présente alors sous la forme d'une substance grenue, presque pulvérulente. Toutefois, cette matière ainsi préparée retient toujours avec elle une certaine quantité de carbonate de potassium, qu'on ne peut pas enlever par de simples lavages à l'alcool. Il faut pour cela redissoudre la substance dans l'eau (10 cm^3) et saturer le carbonate de potassium par 2 à 3 gouttes d'acide acétique.

Troisième temps : *Hydrolyse.* — Ajouter au liquide de l'acide chlorhydrique à 25 p. 100 en poids, le dixième de son volume pour avoir une concentration à 2,2 p. 100. Les tubes à centrifuger munis de leur réfrigérant sont de nouveau portés au bain-marie. L'ébullition est maintenue pendant trois heures. Après ce temps, tout le glycogène est hydrolysé et s'est transformé en glucose.

Solutions.

1° Alcool à 95 degrés.
2° HOK à 40 p. 100 en poids préparée à partir HOK pure en plaques.
3° Alcool à 66 degrés, Ether.
4° ClH à 25 p. 100 en poids préparé à partir de ClH conc.

Etude critique.

Sur la solubilisation alcaline. — Le traitement préalable par l'hydroxyde de potassium répond à un double but : 1° solubiliser parfaitement les tissus employés, sans quoi le reste de l'opération serait illusoire; 2° détruire, tout en respectant le glycogène, les matières réductrices ou susceptibles de le devenir après hydrolyse acide. On se débarrasse ainsi des dextrines, du glucose, du maltose.

Les travaux récents de Good, Krämer, Somogyi (1933), tendent à apporter quelques modifications à la méthode de Pflüger. D'après ces auteurs, la durée de deux heures ordi-

nairement utilisée pourrait être considérablement réduite. Pour certains tissus facilement attaquables par l'hydroxyde de potassium (œufs et foie de Seiche, œufs et hépato-pancréas d'Astérie, etc.), on peut en effet diminuer la durée de l'hydrolyse, mais il est d'autres organes plus résistants qui, après une heure de traitement à l'hydroxyde de potassium, n'ont pas encore été entièrement désagrégés (muscle de Seiche, du pied d'*Ostrea*, branchie d'*Ostrea*, etc.); il nous semble donc indispensable pour ces tissus de prolonger plus longtemps l'hydrolyse.

Sur les concentrations en alcool. — Osterberg (1929) propose d'ajouter du sulfate de sodium à la solution alcaline avant la précipitation par l'alcool. Le sulfate est précipité avec l'alcool et entraîne mécaniquement le glycogène. Sahyun (1931) propose l'addition de charbon de bois dans le même but. Les résultats sont loin d'être satisfaisants, 20, 30 et même 50 p. 100 du glycogène n'ayant pas été précipités au bout d'une heure. En accord avec Kahn, Good, Somogyi et Krämer ont proposé d'abaisser le volume d'alcool utilisé pour la précipitation du glycogène sous prétexte que les hautes concentrations en alcool prolongent considérablement le temps de séparation du glycogène, et qu'il est impossible d'obtenir une liqueur mère claire soit par centrifugation, soit par filtration. Ils proposent de n'ajouter que 1,1 à 1,2 volume d'alcool. Il nous a paru dans nos recherches que ce volume n'était pas suffisant pour obtenir une bonne précipitation du glycogène, et c'est pourquoi nous avons adopté deux volumes.

Temps nécessaire à la formation du précipité. — Pour accélérer la vitesse de précipitation du glycogène, Good, Krämer et Somogyi ont porté à l'ébullition la solution alcoolique. L'avantage de ce mode opératoire ne nous a pas paru bien appréciable; le dosage nécessitant un temps minimum de deux jours, nous avons laissé s'effectuer la précipitation pendant la nuit. Elle nous a d'ailleurs semblé ainsi plus complète.

Sur la purification du précipité. — Nous avons enlevé la plus grande partie des impuretés qui souillent la liqueur

alcaline (particules en suspension, graisses, etc.) avant la précipitation du glycogène par l'alcool. De cette façon, nous avons obtenu un précipité de glycogène plus pur et beaucoup moins coloré, facile à laver avec l'alcool et l'éther. Pflüger précipitait le glycogène par l'alcool, lavait le précipité par l'alcool et l'éther, le dissolvait alors dans l'eau chaude acétique et enlevait les impuretés par filtration de la solution à travers un micro-filtre d'amiante. La purification, effectuée dès le début, nous a semblé préférable, et nous avons utilisé le plus souvent la centrifugation.

2° Dosage du glucose.

Avant de doser le glucose provenant du glycogène des tissus, nous avons pris soin de faire un certain nombre d'essais sur des solutions titrées de glucose, qui nous ont donné des résultats satisfaisants. Nos premiers dosages ont été faits ensuite sur 2 ou 3 échantillons du même tissu, prélevé sur le même animal, et ce n'est que devant la concordance des résultats que nous avons adopté définitivement notre procédé de dosage. L'erreur ne dépasse pas 5 p. 100.

Nous avons dû choisir une microméthode, vu la faible teneur en glycogène des tissus de quelques Invertébrés, et vu, d'autre part, la difficulté de se procurer certains organes en quantité suffisante. Les microméthodes de dosage de glucose le plus fréquemment employées à l'heure actuelle sont celle de Hagedorn et Jensen, et celle de Bertrand modifiée par Michaelis. Au début de nos recherches, nous avons employé la méthode de Bertrand, mais nous avons été obligée de l'abandonner, car elle ne permet pas des dosages de glucose inférieurs à 10 milligrammes; Ambard a apporté quelques légères modifications à la méthode de Bertrand qui permettent d'évaluer des quantités de sucre à partir de 1 milligramme. La limite était encore trop élevée pour certains tissus. Finalement, nous avons adopté la méthode de Bertrand, transformée en microméthode par Michaelis, qui nous a donné entière satisfaction. Elle permet de doser des

valeurs de sucre allant de 0 m. 39 à 1 mg. 31. Pour des quantités supérieures à 1 mg. 31, nous avons mesuré exactement le volume de la solution sucrée et opéré le dosage sur une partie aliquote de la liqueur. Cela nous a permis, d'ailleurs, d'effectuer plusieurs dosages sur le même échantillon et de prendre la moyenne des chiffres trouvés.

Solutions.

1° Solution alcaline de Bertrand :

Sel de Seignette, 200 grammes; soude caustique en plaques, 150 grammes; H^2O, Q.S. pour 1 litre.

2° Solution cuivrique de Bertrand :

SO^4 Cu, 40 grammes; H^2O, Q.S. pour 1 litre.

3° Solution de sulfate ferrique :

$(SO^4)^3$ Fe^2 pur, 50 grammes; SO^4H^2, 200 cm^3; H^2O dist., Q.S. pour 1.000 cm^3.

La liqueur ferrique ne doit pas réduire le permanganate. Pour s'en assurer, il suffit d'ajouter avec précaution à cette liqueur de la solution permanganique; 2 à 3 gouttes de celle-ci doivent suffire pour faire apparaître un changement de coloration, sinon on ajouterait du permanganate en quantité suffisante pour l'obtenir. La liqueur ferrique sera alors bonne pour l'emploi. Au moment du dosage, on mettra dans un tube témoin une quantité de sulfate ferrique égale à celle qui a été utilisée pour dissoudre l'oxydule, et on retranchera du nombre de centimètres cubes de permanganate trouvés le nombre de 1/10^e de cm^3 qui a été nécessaire au virage au rose du témoin.

La liqueur permanganique N/100 a été préparée par dilution au 1/10^e au moment de l'emploi d'une solution N/10 qui a été vérifiée avec une solution exacte d'acide oxalique ou d'oxalate d'ammoniaque.

Technique.

La liqueur chlorhydrique obtenue après hydrolyse est neutralisée avec de la lessive d'hydroxyde de Na pure (0 cm^3 8 environ) par le procédé à la touche avec du papier de tournesol, puis ramenée à légère acidité. Compléter le volume à 12 cm^3 5 avec H^2O dist. La réduction a été faite dans le tube à centrifuger contenant la totalité de la solution sucrée ou une partie aliquote de cette solution, lorsque le dépôt de glycogène après précipitation par l'alcool était abondant.

Ajouter 0 cm^3 7 de la solution de Bertrand (sel de Seignette) et 0 cm^3 5 de la solution de SO^4 Cu. L'excès de sel de Seignette empêche pour les très petites quantités de sucre la formation d'un oxyde de Cu brun qui ne nuit pas directement à l'analyse, mais souvent, à cause de la coloration brune du liquide, rend plus difficile une bonne séparation de l'oxyde de Cu. Placer les tubes à centrifuger pendant trois minutes dans un bain-marie bouillant. On peut prolonger d'une minute pour de très faibles quantités de sucre. Les tubes à centrifuger sont alors retirés du bain-marie et abandonnés au repos pendant quelques minutes, puis on finit de les refroidir sous un courant d'eau. Le précipité d'oxyde de Cu gagne le fond du tube. Le liquide surnageant doit avoir conservé sa coloration bleue, sinon il y a trop de sucre réducteur pour la quantité de solution cuivrique employée, et il faut alors recommencer le dosage avec un volume moindre de solution sucrée.

Dissolution de l'oxydule. — Les liquides sont centrifugés pendant trois à quatre minutes. Un précipité rouge vif, adhérent au fond du tube, permet une décantation très facile du liquide surnageant à l'aide du siphon. Verser sur le dépôt de l'eau distillée chaude destinée au lavage. Le tube est de nouveau soumis à la centrifugation. Décanter le liquide et verser immédiatement par petites portions, et en agitant la liqueur ferrique employée en quantités suffisantes, 2 à 4 cm^3, pour dissoudre entièrement l'oxydule. On obtient ainsi une liqueur verte par formation de sels ferreux pro-

venant de l'action réductrice de Cu^2O sur le sulfate ferrique.

Lorsque le dépôt d'oxydule est très abondant, opérer le dosage au MnO^4K sur une partie aliquote de la solution ferrique. On versera à cet effet la solution ferrique dans un ballon exactement jaugé et on complétera à 25 cm³ avec de l'eau distillée. L'addition d'eau ne modifie pas le dosage au MnO^4K.

Titration. — On verse dans une micro-burette graduée de 5 cm³ divisée en 1/20ᵉ de cm³ la solution MnO^4K N/100 que l'on verse goutte à goutte dans la solution à titrer. Le liquide est versé d'abord rapidement, puis plus lentement pendant qu'on agite le tube centrifugeur à chaque affusion. Vers la fin de la réaction, la décoloration de la goutte ajoutée devient très lente; on laisse alors tomber 2 gouttes de la solution titrée. On agite et on observe sur une surface blanche. Le permanganate réoxyde le sel ferreux et la liqueur se décolore. Lorsque tout le sel ferreux a disparu, une seule goutte de MnO^4K fait passer la couleur au rose. Cette coloration doit persister cinq à sept secondes.

Les valeurs de sucre correspondant au nombre de centimètres cubes de MnO^4K N/100 utilisés figurent dans le tableau suivant (d'après Michaelis) :

cm³ MnO^4K N/100	Sucre en mg	cm³ MnO^4K N/100	Sucre en mg
0,5	0,39	1,8	0,84
0,6	0,42	1,9	0,88
0,7	0,45	2	0,93
0,8	0,48	2,1	0,97
0,9	0,51	2,2	1,01
1	0,55	2,3	1,04
1,1	0,58	2,4	1,08
1,2	0,62	2,5	1,12
1,3	0,65	2,6	1,15
1,4	0,69	2,7	1,19
1,5	0,72	2,8	1,23
1,6	0,75	2,9	1,27
1,7	0,80	3	1,31

Nous avons opéré toute la série de nos expériences dans des tubes centrifugeurs pyrex. Ceci nous a permis d'effectuer toutes nos manipulations dans le même tube et d'éviter les pertes qui se produisent toujours lors du transvasement des liquides.

La méthode que nous avons utilisée pour le dosage du glucose est celle de Michaelis, avec cette différence que nous avons opéré dans le même tube centrifugeur, alors que Michaelis transvasait la solution sucrée dans un récipient qu'il chauffait directement.

CHAPITRE III

ETUDE ANALYTIQUE

I. — ECHINODERMES

Les études entreprises jusqu'à ce jour sur le glycogène ont eu seulement pour but de rechercher l'existence de ce corps chez les Echinodermes.

Picard (1874) signale la présence du glycogène chez les Echinodermes en général, et il ne dit rien en particulier des Crinoïdes, Astéroïdes et Echinides. Il signale cependant que chez l'Holothurie, le glycogène serait surtout abondant dans les organes respiratoires. D'après Krukenberg, les Echinodermes ne renferment que très peu de glycogène ou même pas du tout. Jourdan (1883) et Cohnheim (1901), en accord avec Picard, ont constaté la présence de glycogène chez l'Holothurie. D'après Jourdan, les cellules glandulaires de la paroi du tube digestif des Holothuries seraient assimilables au foie pour la formation du glycogène. Cohnheim a trouvé dans les cæcums tubulaires une diastase saccharifiante, mais il ne dit rien sur le glycogène lui-même. Les travaux de Pflüger ont amené cet auteur à admettre l'existence du glycogène chez les Astéries et les Holothuries. Des recherches intéressantes ont été faites par Moore, Whitley et Adams (1913) et par Rousso (1913) qui ont étudié l'Oursin de mer et ont constaté que la plus grande partie de la nourriture prise par l'animal était utilisée pour la formation des produits sexuels. Kilborn et Mac Leod (1920) ont dosé le glycogène contenu dans l'hépato-pancréas des Astéroïdes; ils ont trouvé 0 g. 232 à 1 g. 520 pour 100 grammes d'organes frais. De

leurs recherches faites à Toronto (1920) sur les cæcums de *Pisaster ochraceus* et du *Pycnopodia heliantoïdes*, il ressort que le taux du glycogène est très variable probablement avec l'alimentation, et est proportionnel à la grandeur des cæcums.

Dalcq (1923) a dosé le glycogène contenu dans les œufs d'*Astérias glacialis* (20 mg. pour 100 g. d'organe frais). Boyland (1928) a étudié le glycogène contenu dans le muscle d'*Holothuria nigra* et a noté ses variations. Voici les résultats qu'il a obtenus : glycogène en milligrammes pour 100 grammes de tissu frais : repos, 90; fatigue, 70. Signalons enfin les recherches très intéressantes de Brammertz et de Kurkiewicz (1928), qui ont étudié la fonction glycogénique du noyau cellulaire au cours du développement des œufs d'Oursin.

La présence du glycogène chez les Echinodermes semble donc démontrée, mais on ne sait rien ou presque rien sur ses variations saisonnières et sur son mode d'utilisation. Nous nous sommes efforcée d'établir sa répartition dans les divers organes de ces animaux et nous avons aussi essayé de déterminer les variations du taux de glycogène à diverses époques de l'année. Un fait a particulièrement retenu notre attention : la présence de glycogène en quantité notable dans les glandes génitales. Il nous a semblé, en outre, qu'il existait chez l'Astérie un rapport entre le glycogène de l'hépato-pancréas et celui des glandes génitales, en ce sens qu'une partie du glycogène de l'hépato-pancréas paraît utilisée par les glandes génitales au début de leur développement. On observe ensuite une surcharge considérable de glycogène à la fois dans l'hépato-pancréas et dans les glandes génitales au moment de la ponte.

Asterias rubens.

1° Données antérieures.

Kilborn et Mac Leod ont établi le taux du glycogène des cæcums hépatiques d'étoiles de mer (*Pisaster ochraceus*).

Ils ont constaté des variations importantes, qu'ils considèrent avoir pour cause principale l'alimentation des animaux. Voici les résultats obtenus par ces auteurs :

Poids en grammes du matériel étudié	Pourcentage en grammes de glycogène
41,9	1,52
14,2	0,268
16,6	0,478

2° Observations personnelles.

L'*Asterias rubens*, espèce très commune dans le Bassin d'Arcachon, que l'on peut se procurer à n'importe quelle période de l'année, est carnivore et se nourrit en particulier de Mollusques : Moules, Huîtres et Oursins.

Nos premières recherches (n° 1) ont été faites sur des animaux capturés à la fin du mois de septembre 1932. D'autres ont été faites en décembre (n° 2), en mars (n° 3), en avril (n° 4), en mai (n° 5) et en octobre 1933 (n° 6).

L'hépato-pancréas des animaux du lot n° 1 était très développé et occupait à lui seul presque toute la cavité. En décembre (lot n° 2), nous avons constaté que les glandes génitales encore petites commencent à pénétrer dans les bras. En mars (lot n° 3), les glandes génitales sont très développées; elles arrivent jusqu'à l'extrémité des bras dont elles occupent une grande partie, alors que l'hépato-pancréas se trouve réduit. Pour les animaux des lots n^{os} 4 et 5, capturés en avril-mai, nous avons observé une diminution progressive des glandes génitales qui finiront même par être peu visibles (lot n° 6, en octobre).

Avant de prélever les organes, nous avons enlevé le liquide cavitaire par section de l'extrémité des bras, l'animal étant placé en position verticale. Une incision est ensuite pratiquée à la partie supérieure de chaque bras, allant de l'extrémité au disque central. Par écartement des parois, on aperçoit les glandes génitales et l'hépato-pancréas que l'on recueille séparément et que l'on essore avec soin avant de le peser.

Le tableau suivant indique le poids des organes de trois grosses Astéries dont les glandes génitales étaient très développées.

TABLEAU I

Mars.

(Poids en grammes).

	Astérie A	Astérie B	Astérie C
Animal entier	113	155	123
Hépato-pancréas	17	21	30
Organes génitaux	28	45	23
Téguments	58	83	69
Rapport $\frac{\text{Hépato-pancréas}}{\text{Poids total}}$	15,04 %	13,54 %	24,39 %
Rapport $\frac{\text{Organes génitaux}}{\text{Poids total}}$	24,77 %	29 %	18,69 %

Les Astéries capturées en octobre 1933 étaient de petite taille. Dans le tableau II nous avons indiqué le poids des divers tissus de deux animaux pris à cette époque et le rapport qui existe entre le poids de l'hépato-pancréas et le poids total de l'animal.

TABLEAU II

Octobre.

(Poids en grammes).

	Astérie A	Astérie B
Animal entier	28,600	28,900
Hépato-pancréas	4,500	3,535
Organes génitaux	Traces	Traces
Téguments	12,800	15,300
H^2O	8,450	5,830
Rapport $\frac{\text{Hépato-pancréas}}{\text{Poids total}}$	15,73 %	12,23 %

Les résultats de nos dosages de glycogène dans l'hépato-pancréas et dans les organes sont réunis dans le tableau III.

TABLEAU III

(Gr. de glycogène pour 100 grammes de tissu frais.)

	Cæcums radiaux		Glandes génitales	
Septembre	0,450 0,475 0,750 0,462	moyenne : 0,534		»
Décembre	0,123 0,112 0,200 0,673	moyenne : 0,277	0,025 traces	
Mars	0,112 0,377	moyenne : 0,244	0,114 0,092	moyenne : 0,103
Avril	0,272		0,250	
Mai	2,201 2,000	moyenne : 2,100	0,508 0,582 0,593	moyenne : 0,561
Octobre	1,520 0,672	moyenne : 1,096		» »

Le glycogène était abondant dans les cæcums en septembre avant le développement des organes génitaux. A mesure que ceux-ci se sont développés (déc.-janv.), la quantité de glycogène de l'hépato-pancréas a diminué de façon notable, puis elle a augmenté de nouveau très rapidement pour atteindre le chiffre le plus élevé en mai (2 g. 100). La moyenne de glycogène, qui était de 0 g. 534 pour 100 grammes d'organe frais en septembre, est tombée à 0 g. 277 en décembre, alors que les organes génitaux qui commencent à se développer renfermaient des traces de glycogène. La teneur en glycogène des cæcums semble rester constante pendant les mois qui suivent, alors qu'elle augmente dans les glandes génitales. Mars : hépato-pancréas, 0,244; glandes génitales, 0,103. Avril : hépato-pancréas, 0,272; glandes génitales, 0,250.

Au moment du développement maximum des glandes génitales (mai), le glycogène augmente considérablement à la fois dans les cæcums et dans les glandes génitales : hépato-pancréas, 2,100; glandes génitales, 0,561.

D'après ces résultats, nous pouvons conclure que l'hépato-

pancréas contient toujours du glycogène, mais en quantité très variable. En dehors du facteur alimentation déjà signalé par Mac Leod et Kilborn, il existe un deuxième facteur susceptible de modifier considérablement la teneur en glycogène de certains organes. Il se produit au moment de la formation des glandes génitales une surcharge de glycogène dans l'hépato-pancréas, en même temps que le glycogène apparaît dans les glandes et s'y accumule. Il semble que l'on peut trouver là une des causes des grandes variations de la teneur en glycogène des cæcums.

L'accumulation du glycogène dans les glandes génitales est un fait qui nous a paru très intéressant, car il laisse supposer l'utilisation de ce corps pour la formation des produits sexuels. En résumé, nos recherches nous conduisent à admettre :

1° Que le glycogène de l'hépato-pancréas est mobilisé au moment du développement des organes génitaux et sert à leur formation;

2° Que le glycogène en surcharge dans les organes génitaux au moment de leur développement est utilisé pour la formation des produits sexuels.

Paracentrotus lividus.

1° Données antérieures.

Les auteurs qui ont étudié les Oursins de mer se sont surtout attachés à déterminer la constitution des œufs. Moore, Whitley et Adams ont étudié *Echinus esculentus* à diverses époques de l'année, et ils ont constaté que 90 p. 100 de la nourriture de l'animal était utilisée pour la formation des produits génitaux. Le glycogène ne diminuerait pas considérablement chez les Oursins de mer à jeun. Ils ont évalué à 1 g. 360 environ le glycogène contenu dans 100 grammes d'organe frais.

Ces auteurs ont trouvé du glycogène dans les œufs non parvenus encore à maturité.

Russo constata que la composition des organes génitaux

varie considérablement, en particulier au moment de leur activité maxima. Voici ce que dit Kurkiewicz sur les œufs d'Oursin de mer :

Les œufs de *Sphœrechinus granularis* et de *Paracentrotus lividus* sont totalement dépourvus de glycogène; cette substance apparaît après la fécondation au sein du noyau, puis traverse la membrane nucléaire pour se répandre dans certaines régions du cytoplasme. Elle subsiste au cours des divisions successives et se retrouve dans les cellules filles. Le noyau des blastomères continue d'ailleurs à en élaborer jusqu'à ce que le stade de blastula soit atteint. Toutefois, à mesure que le développement se poursuit, la teneur des cellules en glycogène diminue et devient à peu près nulle quand l'embryon est au stade de blastula cilié, c'est-à-dire au moment où l'organisme, qui jusqu'alors ne prenait au milieu ambiant que de l'eau, de l'oxygène et des sels, commence à faire entrer les substances organiques dans son alimentation. En accord avec Brammertz, Kurkiewicz constata que les œufs mûrs de ces animaux ne contiennent plus du tout de glycogène. De l'examen des œufs d'Oursin, il semblerait, dit Kurkiewicz, que chaque processus caryocinétique, au moins dans les œufs en segmentation, s'accomplit dans une atmosphère glycogénique, et que, dans ces cas, la présence du glycogène, qui, comme on le sait, possède une quantité importante d'énergie potentielle pouvant facilement s'utiliser, est nécessaire pour assurer à la cellule en division une source d'énergie pour lui permettre d'effectuer le travail qui accompagne le processus de la division cellulaire. Ces recherches semblent donc démontrer que le glycogène est élaboré par le noyau cellulaire et est la source de l'énergie de la cellule.

Bien que notre travail n'ait pas eu pour but de déterminer par des procédés histologiques les cellules ou les parties de la cellule dans lesquelles s'accumule le gycogène, nous avons trouvé utile cependant de signaler ces faits très intéressants. Personnellement, nous nous sommes bornée à rechercher le glycogène dans les divers tissus de l'animal par la méthode déjà décrite.

2° Recherches personnelles.

Les Oursins étudiés ont été capturés dans le Bassin d'Arcachon au début d'octobre 1933. Les organes ont été prélevés après que l'on a eu saigné l'animal. Nous avons prélevé séparément la masse intestinale, les organes génitaux et les œufs.

La masse intestinale contient une quantité de glycogène appréciable. Les organes génitaux ont une teneur beaucoup plus élevée. Comme nous n'avons pu étudier qu'un poids très faible d'œufs, un dosage précis nous a été impossible. Nous avons pu identifier cependant la présence de traces de glycogène.

Glycogène exprimé en grammes pour 100 grammes de tissu frais.

Masse intestinale	Organes génitaux		Œufs
	briques	bruns	
0,260	1,014	1,418	traces
0,374	1,951	»	»

Holothuria tubulosa.

Nous avons vu qu'à la suite des expériences de Picard, Jourdan et Cohnheim, on avait admis la présence de glycogène chez l'Holothurie. D'après Picard, il serait surtout localisé dans les organes respiratoires.

Nos recherches personnelles n'ont porté que sur deux spécimens capturés au début d'octobre dans le Bassin d'Arcachon.

Nous avons recherché isolément le glycogène dans le derme, le muscle et le poumon.

Voici les résultats que nous avons obtenus exprimés en milligrammes pour 100 grammes de tissu frais :

Muscle : 840-220;
Derme : 75;
Poumon : Traces.

II. — VERS

1° Données antérieures.

Plathelminthes.

Le glycogène a été l'objet de nombreuses recherches, en particulier chez les Vers parasites de l'homme et des animaux, mais ici, comme chez les Echinodermes, on l'a surtout caractérisé par des procédés histologiques plutôt que par des méthodes chimiques. D'après le tableau de Barfürth établi selon les données de Krukenberg, on trouve du glycogène dans les Annélides, les Plathelminthes et les Némathelminthes. La question du glycogène chez les Plathelminthes et les Némathelminthes ayant été assez étudiée, nous n'avons entrepris personnellement aucune recherche à ce sujet. Les résultats nous ont paru cependant intéressants à signaler et nous en donnerons un aperçu rapide.

Claude Bernard (1859) a signalé la présence du glycogène chez les Tænias, ce qui a été confirmé par Rindfleisch, Foster et Fredericq. Claude Bernard [1] a trouvé également du glycogène chez les Cysticerques et les Douves du foie. Weinland (1901) a trouvé chez le Tænia du Mouton de 1,5 à 4,7 de glycogène pour 100 grammes de substance fraîche. Des quantités du même ordre : 3,4 p. 100, ont été trouvées chez le Tænia humain. Weinland a fait aussi quelques recherches sur le glycogène du *Tænia marginata*. Le Chien, infesté avec le *Cysticercus tænuicollis*, était ensuite nourri soit avec de la viande sans glucides, soit avec du pain et du lait. Les Tænias du Chien nourri avec le régime pain, lait, contenaient 5,4 de glycogène pour 100 grammes de substance fraîtodes. Weinland a également étudié le glycogène des Trématodes. Il a trouvé pour le *Distoma hepaticum* du foie du Mouton une teneur en glycogène de 2,5 p. 100 de substance

(1) Claude Bernard, *Glycogène chez les Invertébrés, Phénomènes de la vie*, t. II, p. 116, 1879.

fraîche. Ce fait a été confirmé par Kobert (1903). Il nous a paru intéressant de signaler ces chiffres importants et élevés. La localisation du glycogène dans les Tænias a été étudiée par Busch (1903). Il a trouvé peu de glycogène dans les anneaux jeunes, et, par contre, une quantité assez notable dans les Tænias anciens qui avaient des organes générateurs nettement reconnaissables. Dans les proglottides mûrs, il n'a pu déceler que de très petites quantités de glycogène, et dans les œufs, des traces seulement. Le glycogène siège dans la substance intercellulaire. Dans le scolex, on n'en trouve que dans les crochets. Brault et Loeper (1904) ont obtenu des résultats analogues. Ils n'ont décelé que peu de glycogène dans les œufs.

Némathelminthes.

Comme chez les Plathelminthes, la teneur en glycogène des Némathelminthes est assez élevée.

Foster (1865) a signalé la présence du glycogène dans *Ascaris lumbricoïdes*. Weinland (1902) a dosé avec le procédé de Brücke-Kulz, chez *Ascaris lumbricoïdes* : 4,2 à 7,1 de glycogène pour 100 grammes de substance fraîche, et chez *Ascaris mystax* de l'intestin du Chien, 4,4 p. 100. Il n'existe pas de variations saisonnières. C'est ainsi que, du mois de juin au mois d'août, la teneur était en moyenne de 5,5 p. 100, et en automne et en hiver 5,3 p. 100. Brault et Loeper (1904), utilisant la méthode à l'iode, n'ont pu déceler le glycogène dans les œufs d'Ascaris. Dans la larve d'*Ankylostome duodénale*, Busch, par voie histologique, n'a pas trouvé de glycogène. Il a signalé la présence de cette matière dans les faisceaux musculaires de différents Némathodes, en particulier dans les dépendances en forme de sacs et entre les plaques contractiles, ce qui laisse supposer l'utilisation du glycogène pour l'activité du muscle. On trouve, en outre, du glycogène dans les cellules sous-cutanées, dans les bandes médianes et latérales et dans les œufs, surtout lorsqu'ils ne sont pas encore mûrs. Les organes génitaux mâles et les cellules épithéliales de l'intestin en contiennent également.

H. Marcus a observé chez *Ascaris mystax* une surcharge en glycogène dans les organes génitaux pendant leur maturation, puis une forte diminution au moment de la formation de la coque. Fauré-Fremiet a dosé le glycogène contenu dans le corps d'*Ascaris megalocephala* (1913); il a trouvé 2 g. 105 de glycogène pour 100 grammes d'organe desséché, et dans *Sabellaria alveolata* (1921), 1 g. 270 pour 100 grammes de poids frais. Il convient enfin de signaler les travaux de Marie Dyrdowska (1931), élève de Kurkiewicz, qui a cherché le glycogène contenu dans les œufs d'*Ascaris megalocephala* à l'état normal et dans une atmosphère d'N.

Annelides.

Peu de recherches ont été faites chez les Vers Annelides. Lesser (1908) a étudié les Vers de terre à l'état normal et après neuf jours de jeûne. Dans le premier cas, il a trouvé : 0 g. 419 de glycogène pour 50 g. 67 de substance fraîche, et, dans le second cas : 0 g. 166 de glycogène pour 50 g. 67 de substance fraîche. Boyland (1928) a trouvé dans le muscle du *Lumbricus* les valeurs suivantes, exprimées en milligrammes pour 100 grammes de tissu frais : repos, 54; fatigue, 52.

2° Recherches personnelles.

Vers annelés.

Arenicola piscatorum.

Arenicola piscatorum habite des tubes en U creusés dans le sable et tapissés de mucus. On le trouve facilement dans le Bassin d'Arcachon, où il se nourrit de petites proies en suspension dans l'eau.

A notre connaissance, il n'y a pas de recherches sur le glycogène faites jusqu'à ce jour chez ces animaux.

Leur appareil digestif est des plus simples : il se compose d'un tube sensiblement rectiligne présentant quelques renflements et qui s'étend d'un bout à l'autre du corps. Nous

nous sommes bornée à rechercher le glycogène dans les téguments de l'animal.

Ces téguments comprennent : 1° un exoderme formé d'une seule assise de cellules épithéliales cylindriques, surmonté d'une cuticule en général assez mince; 2° un derme conjonctif; 3° une couche musculaire formée de fibres transversales; 4° des muscles longitudinaux.

Les différentes parties constituant le tégument étant très difficiles à séparer, c'est sur tout l'ensemble que nous avons effectué des dosages de glycogène. Nous avons trouvé des valeurs allant de 0 g. 967 à 1 g. 012 pour 100 grammes de substance fraîche.

Il nous a paru intéressant de rechercher le glycogène dans le sang de cet animal. Ce liquide, rouge violacé à reflets verdâtres, doit sa coloration rouge à l'hémoglobine dissoute dans le plasma, et la couleur verte à de la chlorocruorine, substance albuminoïde voisine de l'hémoglobine.

Nous avons prélevé 5 cm^3 de sang que nous avons recueilli en présence de fluorure de Na, dans la proportion de 0 g. 60 pour 5 cm^3 de sang. Après centrifugation, les hématies se sont déposées au fond du tube.

Nous avons trouvé que les hématies contenaient 0 mg. 39 de glycogène, soit 7 mg. 8 de glycogène pour 100 cm^3 de sang.

Sipunculus nudus L.

Les Siponcles vivent enfouis dans les sables vaseux et abondent dans le Bassin d'Arcachon. Nous avons d'abord prélevé le liquide cavitaire. Dans ce but, l'animal est placé verticalement en état d'extension, au-dessus d'un verre à pied, et on pratique une petite incision suivant la ligne médiane, au voisinage de la tête, afin de ne pas perforer l'intestin. La vaste cavité cœlomique renferme un liquide rosé, rendu trouble par l'abondance des éléments figurés qu'il tient en suspension. Ces éléments peuvent se classer en quatre catégories : hématies, amibocytes variés, vésicules énigmatiques, produits génitaux. Les hématies renfer-

ment de l'hémérythrine, pigment ferrugineux qui, en fixant l'oxygène de l'air, se colore en rouge violacé. Le tube digestif très long, généralement rempli de sable dont se nourrissent les Siponcles, forme de nombreuses circonvolutions dans la cavité centrale. Ces animaux n'ont pas d'hépato-pancréas. L'enveloppe de l'animal est formée de tissus distincts. Elle comprend : 1° une épaisse cuticule, différente de la chitine, en ce qu'elle se dissout complètement dans la potasse chaude; 2° un épiderme; 3° du tissu conjonctif gélatineux; 4° des muscles circulaires et longitudinaux; 5° un épithélium péritonéal.

Récolte des hématies et des éléments blancs. — Le sang qui s'écoule par la blessure est recueilli en présence de fluorure de sodium dans la proportion de 0 g. 60 pour 5 cm^3 de sang. Centrifuger. Les hématies se déposent au fond du tube, viennent ensuite les éléments blancs. Le plasma surnage. On prélèvera séparément à l'aide d'une pipette fine les hématies et les éléments blancs sur lesquels on effectuera le dosage.

Récolte de la peau et du muscle. — Prélever la partie centrale de l'animal. Enlever soigneusement l'intestin et la chaîne nerveuse. La partie externe, peau et muscle, est alors lavée avec soin dans de l'eau de mer pour enlever le sable qui aurait pu adhérer. Sécher au papier filtre.

Nos dosages ont porté sur des animaux capturés au début et à la fin du mois de mars. Le tableau suivant indique les résultats que nous avons obtenus.

	Muscle et peau (gr. p. 100)	Hématies (dans 100 cm^3)	Éléments blancs (dans 100 cm^3)
10 mars..... ...	0,970	0,048	0,058
	2,100	0,084	0,072
	2,300	0,067	
	2,620		
	5,766		
	3,232		
	4,000		
	5,160		
28 mars....	1,160	0,058	0,039
	1,440	0,063	
		0,039	

III. — CRUSTACES DECAPODES

1° Données antérieures.

Depuis longtemps, la présence du glycogène a été décelée chez les Crustacés décapodes. Voici ce que dit Charles Richet (1907) à ce sujet (1) :

« Quant à la glande des animaux invertébrés qu'on identifie avec le foie, on sait, depuis Claude Bernard, que chez les Ecrevisses elle contient du glycogène. »

Les recherches de Hoppe-Seyler, de Barfurth et de B. Kirch concordent sur ce point avec celles de Claude Bernard. Chez de grosses Ecrevisses de 5 à 6 ans, même après un jeûne de cinq semaines, on trouva encore dans le foie des traces évidentes de glycogène, tandis que les muscles n'en contenaient pas. Nourries avec de la fibrine ne contenant pas d'hydrates de carbone, elles donnèrent 0 g. 800 de glycogène pour 100 grammes dans le foie et 0,114 à 0,142 dans le muscle. On trouve toujours du glycogène dans les cellules, les tissus conjonctifs et aussi dans les parenchymes glandulaires lorsque les animaux sont dans un bon état de nutrition; mais si l'alimentation n'est pas suffisante, alors dans les éléments glanduleux on n'en trouve plus que des traces. Avec B. Kirch, Barfurth a vu que les glandes vertes de l'Ecrevisse ne contiennent qu'une petite quantité de glycogène. Ils sont d'accord pour admettre que l'Ecrevisse se comporte comme la plupart des animaux pour la formation du glycogène, mais qu'elle se montre comparativement pauvre en cette substance. Picard a recherché le glycogène chez les différents Crustacés :

Homard (mue la veille) : 0 g. 400 à 0 g. 500 pour 100 grammes de tissu frais;

Gros crabe : 0 g. 300 pour 100 grammes de tissu frais.

---

(1) Charles Richet, *Dictionnaire de physiologie*, Article : *Glycogène*, t. VII, p. 297, 1907.

Kilborn et Mac Leod ont donné pour les Crustacés les chiffres suivants : hépato-pancréas, 0 g. 050 à 1 g. 325; muscle, traces à 0 g. 360.

Ce qui a frappé de tous temps ceux qui ont étudié la question du glycogène chez les Crustacés est la variabilité des chiffres obtenus par le foie. La mue semble avoir une influence considérable. Voici ce que dit Cl. Bernard à ce sujet (1) :

« En opérant autrefois sur les Ecrevisses et divers Crustacés, je me trouvais en face des plus grandes contradictions : tantôt je trouvais du glycogène dans leur foie, tantôt je n'en trouvais pas; quelquefois j'en rencontrais des quantités très faibles, d'autres fois des quantités considérables. A quoi tenait cette diversité ? Quelle en était la raison, la condition déterminante ? Je l'ai cherchée longtemps avant de la saisir. Cette condition, tout à fait nouvelle, sans rapport avec aucune des circonstances que nous ayons encore rencontrées, réside dans les renouvellements périodiques que l'animal éprouve dans son enveloppe tégumentaire. C'est le phénomène de la mue qui est ici en connexion étroite avec l'évolution et l'apparition du glycogène.

» Les Crustacés ne font pas leur croissance comme les autres animaux. Enfermés dans une carapace inextensible, leur développement ne devient possible qu'à la condition de la chute périodique de cet obstacle. Ils croissent donc par à-coups, au moment où l'enveloppe trop étroite est tombée pour faire place à une autre. De là, le phénomène de la mue d'autant plus fréquent que l'animal est à une période d'évolution plus rapide et plus active. C'est pendant le jeune âge que les intervalles des mues sont plus rapprochés.

» Si l'on examine le foie ou les autres tissus du Crabe, du Tourteau, du Homard, de l'Ecrevisse, pendant l'intervalle des mues, on n'y rencontre pas de matière glycogène. Au contraire, dans le voisinage de ces époques, on en rencontre en grandes quantités.

» Le foie de ces animaux est composé de tubes en cul-de-sac qui vont se déverser dans l'intestin. Le tube contient l'élément anatomique de la sécrétion biliaire. Il existe seul dans l'intervalle des mues. C'est seulement à l'époque de la mue que la par-

(1) Cl. Bernard, *Glycogène chez les Invertébrés*, *Phénomènes de la vie* t. II, p. 110, 1879.

tie glycogénique entre en activité. Du reste, ce travail de formation glycogénique, qui m'a semblé chez quelques-uns de ces animaux avoir son point de départ dans le foie, étend son action beaucoup plus loin.

» Tout autour du corps, au-dessous de la carapace, on rencontre une couche très nette de matière glycogène dans des cellules volumineuses et constituant ainsi une assise nutritive qui mériterait le nom de blastoderme.

» D'ailleurs, le glycogène chez les Crustacés ne se localise pas exclusivement à la superficie du corps; les autres tissus, et particulièrement le tissu musculaire, en sont également imprégnés.

Nous retrouvons donc chez les Crustacés un nouvel exemple et très convaincant, de la relation qui existe entre l'activité de la nutrition et l'apparition du glycogène.

Le travail de préparation commence chez l'Ecrevisse vingt à vingt-cinq jours environ avant la mue. Le foie augmente de volume et se charge de matière glycogène qui va s'accroissant en quantité, puis qui plus tard diminue. Cette formation de glycogène marche parallèlement avec la formation d'une concrétion calcaire, que l'on appelle improprement œil d'Ecrevisse, et que l'on observe dans les parois de l'estomac. Cette concrétion disparaît avec la formation de la nouvelle carapace. Alors, aussi, le glycogène disparaît, et l'animal retombe dans l'arrêt de développement qui entraîne l'arrêt de la production glycogénique.

Quant à l'évolution ultérieure de cette matière glycogène, nous n'en savons d'une manière précise rien de plus dans ce cas que dans tous les autres. Cependant, certains auteurs, entre autres Schmidt et M. Berthelot, ont montré que la carapace des Crustacés contient un principe appartenant au même groupe que la cellulose et le ligneux qui, sous certaines influences, peut, comme le ligneux, se transformer en sucre. Sans trop forcer la métaphore, on pourrait dire que les Crustacés sont enveloppés d'une carapace de bois. Il est possible que la matière amylacée qui a précédé cette enveloppe, le glycogène en un mot, ait fourni des éléments de formation à cette carapace, en même temps qu'il aurait fourni les éléments à la nutrition d'autres tissus. »

En résumé, d'après Claude Bernard, le glycogène est, chez les Crustacés, un corps temporaire et instable n'existant que dans l'intervalle des mues. Le taux du glycogène varie selon les périodes plus ou moins rapprochées de la

mue, le chiffre le plus élevé étant atteint juste avant la mue. Kirch a constaté également chez l'Ecrevisse que le taux maximum de glycogène du corps entier est atteint au moment où l'animal a changé de carapace. Il était alors de 0 g. 820 p. 100. Un peu avant la mue, il était de 0 g. 400 p. 100; quatre mois après, la teneur en glycogène atteint seulement 0 g. 080 p. 100 du poids total du corps. Des rapports semblables ont été constatés pour *Platycarcinus* et *Maja*. Le foie atteint toujours un pourcentage plus élevé que les autres organes. L.-G. Kilborn et J.-J.-R. Mac Leod ont étudié les variations du glycogène chez *Cancer productus* et *Homarus vulgaris*, variations qui seraient dues à l'alimentation : Homard, foie, 0 g. 780 à 0 g. 050 de glycogène p. 100 g. d'organe frais; muscle (queue), 0 g. 360 à 0 g. 310; muscle (pince), 0 g. 170 à traces. Pour le foie, les variations du taux du glycogène sont assez larges, alors que pour le muscle elles sont relativement faibles. Le muscle de la queue est le muscle le plus riche en glycogène. Pour le cœur, ils ont observé des variations allant de 0 g. 850 pour 100 grammes à 1 g. 060 pour 100 grammes. Ces recherches ont été faites sur des animaux pêchés pendant le mois de septembre.

Verne a étudié, chez divers Crustacés, le rapport qui existe entre la répartition du glycogène aux approches de la mue et l'élaboration de la chitine, laquelle est formée en grande partie par des glucosamines.

Il a fait sur *Cancer pagurus* et *Carcinus mœnas* des dosages de glycogène dans l'hépato-pancréas et les téguments, aux différentes périodes de la mue, à l'aide de techniques variées. L'étude microscopique lui a permis d'apporter des précisions sur les variations de la localisation du glycogène dans les divers tissus. L'hépato-pancréas en contient toujours, et l'on constate avant la mue que la proportion augmente légèrement. Le glycogène de l'hépato-pancréas passe alors dans les téguments, qui en sont normalement privés. Il sera rapidement utilisé pour la formation de la chitine de la nouvelle carapace. Mme Courtois-Drilhon, qui a étudié la glycémie des Crustacés (*Maja*) en rapport avec la mue, a signalé une grande élévation du taux du glucose dans le

sang au moment de la mue et sa disparition presque complète par la suite. Boyland a dosé le glycogène dans le muscle de *Palinurus vulgaris*, *Homarus vulgaris*, *Leander serratus*. Voici quelques-uns des résultats obtenus exprimés en milligrammes pour 100 grammes de tissu frais :

Muscle de l'abdomen de *Palinurus vulgaris* : repos, 90 et 150 milligrammes; fatigue, 50 et 100 milligrammes.

Muscle de l'abdomen de *Homarus vulgaris* :

Animaux normaux : repos, 50 à 200 milligrammes; fatigue, 20 à 160 milligrammes.

Femelle avec œufs : repos, 170 à 180 milligrammes; fatigue, 90 à 130 milligrammes.

Animal en train de muer : repos, 140 milligrammes.

Muscle de l'abdomen de *Leander serratus* : repos, 50 à 90 milligrammes; fatigue, 30 à 40 milligrammes.

En résumé, il ressort des recherches qui viennent d'être exposées que le glycogène varie beaucoup chez les Crustacés, et qu'une des causes très nette de cette variation est le renouvellement périodique de l'enveloppe tégumentaire. Le glycogène qui se forme en abondance au moment de la mue et qui diminue rapidement après l'édification de la nouvelle carapace semble utilisé pour la formation de la carapace.

Au cours de nos recherches, nous avons eu l'occasion de confirmer ces données antérieures; mais, en outre, nous avons pu saisir une autre cause susceptible de faire varier le taux du glycogène de l'hépato-pancréas. Nous avons constaté, en effet, que le glycogène existe en quantité notable dans les organes génitaux au moment de la formation des œufs chez la femelle, c'est-à-dire pendant les mois de mai à septembre (*Maja*). Comme nous l'avons déjà constaté pour les Echinodermes, le développement des glandes génitales et la formation des œufs semblent entraîner une mobilisation du glycogène. Il se produirait à la fois une surproduction temporaire de glycogène dans le foie, suivie rapidement d'une localisation importante dans les organes génitaux en vue de la formation des œufs.

2° Recherches personnelles.

Carcinus mœnas.

Cet animal, très commun sur les côtes, se cache au moment de la mue dans les trous ou sous les algues et se tient immobile jusqu'à ce que son exosquelette soit partiellement durci. Très vorace, carnivore, ennemi redoutable de l'Huître, *Carcinus mœnas* est attiré par les matières organiques en décomposition.

Nos premiers dosages ont été effectués sur des animaux capturés dans le Bassin d'Arcachon au début du mois de mai. Ils venaient de muer, car leurs carapaces étaient encore très molles. Nous avons effectué seulement des prélèvements de carapace et d'hépato-pancréas. Les fragments de carapace prélevés sur deux *Carcinus* pesaient : le premier, 308 milligrammes; le deuxième, 608 milligrammes. Ces carapaces grisâtres, très molles, avaient l'aspect d'un parchemin. Les deux hépato-pancréas, peu volumineux, ont été réunis en une seule prise de 878 milligrammes.

L'attaque par la potasse n'a pas permis, après deux heures de chauffage au bain-marie, une destruction complète de la carapace. Une pellicule très fine, blanche, subsistait encore. Nous avons opéré comme à l'ordinaire, c'est-à-dire que nous avons centrifugé la solution alcaline après l'addition de 2 cm^3 d'H^2O et nous avons décanté le liquide dans un nouveau tube centrifugeur en maintenant la mince pellicule dans le premier tube à l'aide d'un agitateur.

Nous avons obtenu pour les deux prélèvements des réductions très nettes et très abondantes. L'hépato-pancréas nous a donné également une très belle réduction.

D'autres dosages ont été effectués pendant les mois de juin et de juillet sur des Crabes ayant des carapaces molles ou dures capturés à Arcachon et sur des Crabes capturés au début de septembre aux Sables-d'Olonne.

Nous avons prélevé en même temps, lorsque cela nous a été possible, du muscle et des branchies.

Les carapaces ont été pulvérisées au mortier avant l'attaque par la potasse.

Voici les résultats que nous avons obtenus, exprimés en grammes, pour 100 grammes de tissu frais.

	1er MAI	30 JUIN	10 JUILLET	12 SEPT.
Hépato-pancréas..	1,275	0,512 0,370 0,470	0,617 0,354 0,640	0,461
Muscle.....	—	0,266 0,250	0,173	0,045
Branchies.....	—	0,406 0,253	0,282 0,935 0,545	—
Téguments.....	—	—	—	1,450
Carapace.....	2,977 (très molle) 1,792 »	0 (dure)	0,385 (molle) 0,177 (résistante)	—

Nous nous trouvons en face des plus grandes contradictions : tantôt nous trouvons beaucoup de glycogène dans la carapace, tantôt nous n'en trouvons pas du tout. Nous avons constaté que les carapaces qui ne contenaient pas de glycogène étaient dures, alors que nous trouvions des quantités considérables de cette matière dans les carapaces très molles, c'est-à-dire dans celles appartenant à des animaux venant de muer. Les autres tissus, muscles, branchies, contiennent du glycogène d'une façon constante, mais en quantité variable.

Astacus fluviatilis.

Les Ecrevisses que nous avons étudiées ont été achetées au marché au mois de juillet. Elles ont été conservées à jeun pendant une quinzaine de jours dans un cristallisoir contenant un peu d'eau, qui a été renouvelée tous les jours. Nous avons prélevé les organes après saignée (par section de l'extrémité de la queue) et dissection de l'animal. Les organes

étudiés ont été : l'hépato-pancréas, le muscle et les organes génitaux. Voici les résultats obtenus, exprimés en milligrammes pour 100 grammes de tissu frais : hépato-pancréas, 181; muscle, 45; organes reproducteurs, 260. Nous avons trouvé partout du glycogène. L'hépato-pancréas et les organes génitaux ont un taux plus élevé que le reste du corps.

Crangon vulgaris.

La Crevette (*Crangon vulgaris*) est un animal côtier. Elle vit à quelques mètres seulement de profondeur et surtout dans les rochers qui découvrent à marée basse. Les crevettes que nous avons étudiées ont été capturées en juillet dans le Bassin d'Arcachon, et en septembre aux Sables-d'Olonne. Nous avons prélevé les œufs gris verdâtres, et du muscle. Voici les résultats que nous avons obtenus, exprimés en milligrammes pour 100 grammes de tissu frais :

	Juillet	Septembre
Muscle.....	28 à 32	22 à 25
Œufs.....	»	88 à 110
Carapace.....	traces	traces

Le muscle est relativement pauvre en glycogène; les œufs, par contre, en contiennent une quantité notable. Comme nous l'avons déjà constaté chez d'autres Invertébrés, nous trouvons chez la Crevette une localisation du glycogène au niveau des produits sexuels.

Maja squinado.

Les *Maja* que nous avons étudiées ont été capturées au mois de septembre 1932 dans le Bassin d'Arcachon. Elles ont été saignées, aussi complètement que possible, par section d'une patte et introduction d'une petite canule en verre à travers le sphincter, après autotomie. Nous avons ensuite enlevé à la scie la partie supérieure de la carapace, et recueilli la mince

pellicule grisâtre, de consistance gélatineuse, immédiatement située sous la carapace, les organes génitaux, l'hépato-pancréas, et dans quelques cas les branchies et le muscle des pattes. Les prélèvements n° 2 ont été effectués le 22 avril sur des Maja ♀ capturées depuis plusieurs jours et qui avaient séjourné dans des bassins. Elles étaient à jeun et avaient des organes génitaux très développés, alors que l'hépato-pancréas était peu abondant. Les lots suivants, n^{os} 3 et 4, ont été recueillis aux mois de juin et de septembre. Le lot n° 4 était constitué par des animaux femelles en bon état, capturés aux Sables-d'Olonne, chez lesquels nous avons pu recueillir des œufs en quantité, de couleur rouge vif. Il ne nous a malheureusement pas été possible de prélever d'autres organes chez ces animaux.

Dans le tableau qui suit, on trouvera les chiffres de nos dosages de glycogène exprimés en milligrammes pour 100 grammes de tissu frais.

	Sept. 1932	22 avril	5 juin	2 sept. 1933
Hépato-pancréas....	0,118	1,170	1,185	—
»	0,465	0,997	—	—
»	—	0,993	—	—
Muscle.....	—	0,965	—	—
»	—	0,976	—	—
»	—	1,051	—	—
Organes génitaux ...	—	0,656	1,200	—
»	—	0,369	1,725	—
»	—	0,645	—	—
Œufs.....	—	—	—	0,256
»	—	—	—	0,377
Téguments.....	—	—	0,480	—
Carapace (dure).....	—	0	—	—
Branchies..... ...	—	1.000	—	—

Il ressort de l'examen de ce tableau que le glycogène est présent en quantité notable dans tous les tissus que nous avons étudiés, exception faite pour la carapace, lorsqu'elle est dure. L'hépato-pancréas semble cependant être un peu plus riche en glycogène que les autres organes. La teneur en glycogène des organes génitaux est également élevée et atteint au

moment du plein développement de ces organes la plus grande valeur qui ait été constatée chez la Maja (1 g. 725). Nous avons trouvé également du glycogène dans les œufs.

IV. — MOLLUSQUES

Les premiers travaux qui ont été entrepris en vue de la recherche et du dosage du glycogène chez les Mollusques sont ceux de Claude Bernard, qui s'est exprimé ainsi [1] :

« J'ai fait un grand nombre d'expériences. J'ai constaté chez tous les Mollusques la matière glycogène en proportions considérables. Voici les Gastéropodes : Hélix, Arion..., des Colimaçons; voici des Acéphales : Huîtres, Moules, Pectens ou Coquilles Saint-Jacques, partout j'ai rencontré la matière glycogène. Il faut avoir soin seulement d'opérer sur des animaux vivants, et non sur des échantillons malades, épuisés et sur le point de périr, encore moins sur des Mollusques morts depuis longtemps. En ce cas, on ne rencontrerait pas de matière glycogène. Toutefois, il en serait autrement si l'animal mourait très vite; c'est ce qui est arrivé par exemple pour des Coquilles Saint-Jacques, qui, sous l'influence de l'extrême chaleur, sont mortes rapidement; elles contiennent abondamment encore du glycogène.

» La matière glycogène se rencontre dans le foie des Mollusques, mais il faut ajouter que ce n'est pas là seulement qu'on peut le trouver. Il imprègne beaucoup d'autres tissus, c'est ainsi que les Huîtres grasses renferment une quantité énorme, non pas de graisse proprement dite, mais de matière glycogène.

» Si dans les Mollusques la matière glycogène est en grande abondance, le sucre, au contraire, est souvent difficile à déceler. Cela tiendrait à ce que la transformation de la matière glycogène étant très lente, le sucre n'aurait pas le temps de s'accumuler et serait utilisé dès sa formation. »

Claude Bernard a trouvé également du glycogène chez les Limnées, chez *Limax*, *Mytilus*, *Unio*, *Anodonta*. Barfurth a

(1) Claude Bernard, *Glycogène chez les Invertébrés*, *Phénomènes de la vie*, t. II, p. 107, 1879.

constaté des variations du glycogène en rapport avec l'alimentation. Krukenberg a préparé avec les foies d'individus récemment capturés et vigoureux de l'espèce *Arion empiricorum* et *Helix pomatia*, en employant la méthode de Brücke, des quantités notables de glycogène authentique. Pflüger, Picard, Henze et Starkenstein sont d'accord pour admettre la présence de glycogène chez les Mollusques.

D'après Lang et Mac Leod, le glycogène du foie des Mollusques serait identique à celui des animaux supérieurs.

A. — *Lamellibranches.*

L'étude histologique et chimique de la répartition du glycogène chez les Lamellibranches a été l'objet de nombreuses et intéressantes recherches. Claude Bernard, qui a étudié l'Huître pendant tout son développement, s'exprime ainsi (1) :

« Les Huîtres présentent dans les premiers temps de leur vie les mêmes phénomènes que nous avons observés chez d'autres embryons, c'est-à-dire que la matière glycogène à l'époque où le foie n'existe pas encore se trouve rassemblée dans des organes transitoires qu'on peut appeler les annexes de l'embryon. »

Nous savons que, pendant l'été, parmi les Huîtres fixées aux rochers, on en rencontre auxquelles on donne le nom d'Huîtres laiteuses. Cette apparence est due à une multitude de petites Huîtres qui troublent le liquide et dont les premiers développements se sont accomplis dans une chambre incubatrice formée par les branchies de la mère. Le jeune animal une fois formé est mobile, il se déplace dans le liquide. Ces déplacements sont rendus possibles grâce à une couronne de cils vibratiles qui garnit une espèce de disque ou de bourrelet existant dans le jeune individu et faisant en quelque sorte hernie entre les deux valves. C'est là un véritable organe de locomotion, mais à un moment donné le bourrelet se détache, l'Huître perd la faculté de se mou-

(1) Id., *ibid.*, p. 108.

voir dans le liquide, elle tombe et se fixe sur un rocher où elle adhère et achève son évolution sans se déplacer désormais.

Dans ce bourrelet, organe transitoire, nous rencontrons la matière glycogène en très grande quantité, et à ce point de vue on pourrait peut-être le considérer comme un véritable placenta vitellin, fournissant à l'Huître embryonnaire la substance amylacée nécessaire à son développement. Bizio a trouvé un principe amylacé chez *Ostrea edulis* L., *Cardium edule* L., *Mytilus edulis* L., *Solen Siliqua* L. et *Pecten Jacobæus* L.

Pour *Cardium Edule*, il a pu extraire 14 p. 100 de glycogène sur la masse totale du corps desséché à la température de 100 degrés. Pour les Huîtres, 9,5 p. 100, et chez *Solen Siliqua*, des traces seulement qu'il n'a pas dosées.

Cependant, cette substance pourrait bien ne pas être du glycogène pur, comme l'a dit lui-même Bizio, mais être mélangée à d'autres substances hydrocarbonées. Pekelharing a trouvé 9,5 à 20 p. 100 de glycogène dans l'Huître. Il a vu cette proportion baisser aux mois de mai et de juin, c'est-à-dire au moment de la formation des produits génitaux.

D'autre part, il a trouvé dans la substance organique de l'Huître native 4 p. 100 de glycogène.

Chittenden a trouvé 2 à 2,50 p. 100 de glycogène dans le muscle de Pecten. Akelly a trouvé beaucoup de glycogène dans l'organe de Bojanus de *Mytilus*. Boyland a étudié le muscle de Pecten. Voici quelques-uns des résultats qu'il a obtenus, exprimés en grammes pour 100 grammes de tissu frais :

	P. opercularis	P. maximus
Repos.....	2,500 à 3,260	0,160 à 0,780
Fatigue.. ...	2,450 à 3,160	0,400 à 0,760

Kilborn et Mac Leod ont trouvé : 0,310 à 1.560 p. 100 de glycogène dans l'hépato-pancréas et 0,077 à 2,670 p. 100 dans le muscle des Mollusques Lamellibranches.

Gryphea angulata.

Nos recherches ont été faites sur des animaux en bon état achetés à Bordeaux au mois de mars. L'Huître ayant été ouverte, on se débarrasse aussi complètement que possible du liquide inter-valvulaire. Les tissus sont ensuite prélevés et soigneusement essorés entre deux feuilles de papier-filtre. Nous avons étudié l'hépato-pancréas, le muscle (pied) et les branchies. Voici les résultats que nous avons obtenus, exprimés en grammes pour 100 grammes de tissu frais :

	Hépato-pancréas	Muscle du pied	Branchies
Mars	1,357	0,430	1,114
	2,142	1,182	0,400
			1,280

Nous avons dosé le glycogène contenu dans l'animal entier sur deux spécimens pris au mois de mars :

Poids de l'animal	Glycogène p. 100 g. de tissu frais
3,310	5,583
2,790	1,860

Ostrea edulis.

Nos recherches ont porté sur des Huîtres prises dans le Bassin d'Arcachon au début du mois de juillet et qui contenaient dans un repli de leur manteau une bouillie ardoisée, constituée par des œufs. Lorsque les œufs viennent d'être fécondés, ils sont blancs; l'Huître est alors dite « laiteuse ». Ce n'est que plus tard, après quelques jours d'incubation, temps variable avec la température, qu'ils vont prendre une teinte ardoisée. A ce moment-là, les œufs sont éclos, et ils ont donné naissance à des embryons ou larves d'une coloration violacée, ce qui provoquera le changement de couleur de l'Huître mère. Ces larves, qui vont rester encore quelques jours dans la coquille mère, ont un diamètre de 0 μ 2 environ. Elles projettent hors de leur coquille une couronne de

cils vibratiles grâce à laquelle, quand elles vont bientôt être expulsées, elles pourront se déplacer dans l'eau au gré des flots et des courants jusqu'au moment de leur fixation.

Nous avons dosé le glycogène dans la bouillie grise recueillie immédiatement à sa sortie de l'Huître vivante et bien essorée. Comme nous nous y attendions, nous n'avons trouvé que très peu de glycogène, l'évolution de l'Huître étant déjà à un stade avancé. Nous avons effectué parallèlement des dosages dans l'hépato-pancréas, le pied et les branchies des Huîtres mères.

Voici, exprimés en grammes, les résultats que nous avons obtenus : hépato-pancréas, 2,700; pied, 0,570; branchies, 0,271; œufs, 0,024 (1); 0,021 (2); 0,040 (3).

Les œufs (1) et (2) étaient franchement gris; les œufs (3) étaient plus blancs, donc à un stade de développement moins avancé, ce qui explique probablement leur taux plus élevé de glycogène.

B. — *Céphalopodes.*

La présence du glycogène dans le foie de la Seiche et du Calmar a été signalée par Picard, qui a trouvé en moyenne 200 milligrammes pour 100 grammes d'organe frais.

D'après Henze, le glycogène manque totalement dans le muscle et le foie du Poulpe, et ce fait surprenant a conduit l'auteur à se demander si le métabolisme glucidique des Céphalopodes ne s'effectuerait pas à l'aide de pentoses, probablement de xylose, dont il a signalé la présence dans le muscle, le foie, les reins, les branchies et les œufs.

Plus récemment, Starkenstein et Henze ont pu mettre en évidence la présence de glycogène dans le foie et les muscles du Poulpe. Signalons enfin que Boyland a étudié les variations du glycogène musculaire de *Sepia elegans* et qu'il a trouvé :

pour le muscle au repos : 24 milligrammes dans 100 grammes de tissu frais;

pour le muscle fatigué : 32 milligrammes dans 100 grammes de tissu frais.

Sepia officinalis L et Sepia filliouxi.

La Seiche est un des Céphalopodes les plus communs de nos côtes. Elle se plaît surtout dans les prairies de zoostères et sur les fonds vaseux ou sableux; elle remonte souvent à fleur d'eau où on peut la voir lorsque la mer est calme, circuler lentement en quête de sa nourriture. Elle se nourrit presque exclusivement de Coquillages, de Crabes et de Crevettes.

Nos recherches ont été faites sur deux espèces de Seiches : *Sepia Filliouxi* et *Sepia officinalis*, que l'on pêche en abondance dans le bassin d'Arcachon, et dont les migrations ont été étudiées par L. Cuénot.

Sepia Filliouxi pénètre dans le Bassin d'Arcachon en mars-avril; elle est alors prête à pondre et présente d'énormes glandes nidamentaires. La ponte a lieu en avril, mai, juin et juillet. L'éclosion des œufs s'échelonne de juin à septembre. *Sepia officinalis* entre dans le Bassin en juillet-août; elle retourne à l'Océan en octobre-novembre, où se fait la ponte. Nous avons dosé le glycogène dans le foie, le pancréas, le muscle, les cœurs branchiaux, les organes nidamentaires blancs et rouges, les œufs, les corps fungiformes ou reins, etc.

Fendons la paroi ventrale d'une Seiche adulte, suivant la ligne médiane, puis rabattons de chaque côté la paroi palléale, nous voyons sans rien disséquer : 1° le foie, qui est une grosse masse couleur brun clair, constituée par deux glandes symétriques juxtaposées et indépendantes sur presque toute leur longueur; 2° le pancréas, formé d'une foule de villosités arborescentes; puis de chaque côté de la glande du noir apparaissent, chez la femelle, les glandes nidamentaires. Ces glandes, qui sécrètent les enveloppes de l'œuf, sont de deux sortes : la première paire, la plus importante, est formée par deux gros corps blancs ovoïdes; la deuxième paire, par les glandes nidamentaires accessoires, qui sont d'un rouge vif. Au-dessous des branchies, enfin, apparaissent les œufs, jaunâtres, transparents, à parois fort minces, serrés les uns contre les autres.

Le lot de Seiches n° 1 a été capturé au début de mai; le lot n° 2 au mois de juin, et le lot n° 3 au commencement d'octobre. Les prélèvements ont été effectués sur le lieu même de la pêche (1), les animaux étant dans les conditions de vie normale. Les animaux des lots n°s 1 et 2 présentaient des glandes nidamentaires très développées et la grande poche viscérale était remplie d'œufs.

Dans le tableau qui suit, nous avons réuni les chiffres limites de nos dosages exprimés en milligrammes pour 100 grammes de tissu frais.

	Mai	Juin	Octobre
Foie	32 à 45	25 à 59	116 à 168
Pancréas	128 à 160	53 à 193	104 à 135
Muscle	20 à 111	53 à 465	71 à 158
Branchies	—	—	58 à 93
Corps fungiformes	153 à 205	98	141 à 168
Cœurs branchiaux	60	—	—
Organes nidament. blancs	281 à 345	108	38
Organes nidament. rouges	—	792	—
Organe reproduct. mâle	—	—	65
Œufs non mûrs	308 à 507	322 à 457	—

De l'examen de ce tableau il ressort que le glycogène n'est pas localisé chez la Seiche dans certains organes (foie et muscle), comme chez les Vertébrés, mais qu'il est dispersé dans tous les organes. Un autre fait mérite d'être signalé, c'est la surcharge en glycogène des organes nidamentaires. Pendant toute la période de formation des produits génitaux, les organes nidamentaires sont très volumineux et très riches en glycogène. La question s'est donc posée de savoir si le glycogène ainsi mis en réserve était utilisé pour la formation des produits sexuels.

Dans ce but, nous avons recueilli, vers la fin du mois de juin et au début de juillet, les œufs déposés dans les herbiers qui sont alors prêts à éclore. Réunis en grappes, ils

(1) On prépare à l'avance une série de tubes à essai, bouchés au liège paraffiné, dans lesquels on verse de l'alcool à 95 degrés et que l'on pèse exactement. L'animal est sacrifié par saignée (incision des vaisseaux branchiaux), aussitôt après avoir été capturé. Les fragments des organes découpés au ciseau sont introduits aussitôt après dans les tubes que l'on pèse de nouveau au retour de la pêche.

ressemblent, comme on sait, à de gros raisins noirs. La coque noire, de consistance élastique qui les enveloppe, est le produit de sécrétion des glandes nidamentaires rouges; elle contiendrait, d'après V. Fürth, une glycoprotéine à base de glycosamine. A l'intérieur, se trouve l'embryon muni du sac vitellin, que l'on peut facilement recueillir.

A mesure que l'œuf évolue, l'animal grandit, le sac vitellin diminue d'autant. Au moment de la naissance, il ne reste plus qu'une petite poche insérée entre les bras; la coque, pendant toute l'évolution embryonnaire, s'est considérablement accrue en volume par absorption d'eau, mais sa paroi a diminué d'épaisseur jusqu'à devenir transparente, et elle finira par se rompre. L'évolution dure deux mois environ.

Nous avons dosé le glycogène dans l'embryon, le sac vitellin et la coque noire. Là encore, nous avons trouvé des quantités notables de glycogène. Les prélèvements (n° 1) ont été faits le 10 juin sur de très gros œufs. L'embryon, bien vivant, mesurait de 15 mm. à 17 mm. de long, et 8 mm. à 9 mm de large. Son poids était d'environ 150 milligrammes.

Nous avons trouvé de 160 à 174 milligrammes de glycogène pour 100 grammes de tissu dans l'embryon. Les poches nutritives, trop petites, ne nous ont pas permis de faire de dosage. La coque noire contenait de 50 à 60 milligrammes de glycogène pour 100 grammes.

Les prélèvements (n° 2) ont été faits le 5 juillet sur des œufs beaucoup plus petits.

L'embryon mesurait ici de : 10 mm. à 11 mm. de long, et 4 mm. à 5 mm. de large. Le poids moyen était de 100 milligrammes.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

Embryon : 144 à 500 milligrammes de glycogène p. 100;

Poche nutritive : 281 à 290 milligrammes de glycogène p. 100;

Coque noire : 31 à 35 milligrammes de glycogène p. 100.

Octopus vulgaris.

Le Poulpe est un Invertébré marin très actif qui se nourrit de Crabes, de Mollusques et de Poissons.

Nos recherches ont été faites sur deux lots de Poulpes capturés dans le Bassin d'Arcachon (banc de Pinaud) : le premier en septembre 1932, le deuxième en octobre 1933. Les prélèvements (n° 2) plus importants ont été effectués sur deux Poulpes; le premier a été sacrifié le lendemain de la capture; le deuxième, dix jours après. Ce dernier avait été conservé à jeun dans les bassins du laboratoire.

Nous avons dosé le glycogène dans le foie, le muscle, les branchies, les corps fungiformes, les cœurs branchiaux, les glandes salivaires et la masse génitale. De nos recherches, réunies dans le tableau suivant, il se dégage que le glycogène est réparti dans tous les organes d'une manière assez uniforme. Dans le lot n° 2, le premier Poulpe, qui avait été sacrifié à la fin de la digestion, contenait une proportion de glycogène plus élevée que celle de l'animal qui avait été conservé à jeun pendant dix jours. Les glandes salivaires et les glandes génitales annexes sont les organes qui contenaient le plus de glycogène.

	Foie	Muscle	Branchies	Cœurs branchiaux	Corps fungif.	Glandes salivaires	Masse génitale
	—	—	—	—	—	—	—
Sept.....	111	22	—	—	—	—	—
	51						
	84						
Octobre .	97	21 (1)	45 (1)	110 (1)	104 (1)	372 (1)	65 (1)
	216	143 (2)	97 (2)	250 (2)	115 (2)	360 (2)	88 (2)
	88						Masse génit. Annexe 407

C. — *Gastéropodes.*

Aplysia Punctata et Aplysia Fasciata.

1° Donnés antérieures.

D'après Frenkzel, Röhmann et Bottazzi, le glycogène fait défaut chez l'Aplysie. F. Röhmann (1899), travaillant à la Station zoologique de Naples, a fait de nombreux essais de

caractérisation du glycogène dans le foie et a conclu à l'absence de cette matière. A vrai dire, en utilisant la méthode de Brücke, il a pu isoler une substance qui semble être du glycogène, en ce sens qu'après avoir été hydrolysée par HCl à la température de l'ébullition, elle réduit le sel de Cu en milieu alcalin, mais cette matière ne serait autre qu'un pentosane d'origine alimentaire. L'Aplysie, en effet, se nourrit d'algues (*Ulva lactuca*), qui sont riches en pentosanes. Röhmann a admis que la matière réductrice retirée du foie représente un résidu alimentaire resté dans les canaux de la glande de l'animal, n'ayant aucune valeur nutritive. Bottazzi (1901) a fait des recherches analogues à Naples. Il a isolé également de l'hépato-pancréas un corps réduisant le sel de Cu en présence d'alcali. Le corps réducteur obtenu à partir d'un matériel purifié présente bien les propriétés des pentoses. Il a semblé toutefois impossible à Bottazzi de l'identifier avec le pentosane, comme l'a affirmé Röhmann. En résumé, d'après Bottazzi, le foie de l'Aplysie ne contient pas de glycogène, mais renferme un polyholoside, qui, hydrolysé par les acides minéraux, donne naissance à des pentoses (arabinose, xylose). Ce polyholoside dérive probablement du pentosane alimentaire et représente un produit d'oxydation intraglandulaire de celui-ci.

Puisqu'on ne trouve pas de glycogène dans le parenchyme hépatique, il faut admettre que le sucre d'origine alimentaire n'est pas emmagasiné sous cette forme, fait singulier qui laisse supposer que le comportement de l'Aplysie est tout à fait spécial, par rapport aux animaux supérieurs et aux autres Gastéropodes.

D'après Henze et Starkenstein (1912), le foie de l'Aplysie contient du glycogène. Si l'on n'en trouve que de faibles quantités, cela est dû aux deux causes d'erreurs suivantes : 1° présence de sels dans l'eau de mer et particulièrement de magnésium qui, lors de l'addition de HOK, adsorbe une partie du glycogène. Lorsqu'on ajoute l'alcool, il se forme un précipité d'où l'eau bouillante ne peut entraîner tout le glycogène; 2° présence de glucosamines dérivées et de pentosanes. Cette cause d'erreur pourrait être écartée d'après les

auteurs, en prolongeant l'ébullition avec l'hydroxyde de potassium et en ajoutant un seul volume d'alcool au lieu de deux pour précipiter tout le glycogène, et enfin en hydrolysant le précipité alcoolique obtenu directement, et non après l'avoir dissous dans l'eau. Dans le foie, ces auteurs ont trouvé 125 milligrammes p. 100 grammes de tissu frais.

2° Recherches personnelles.

Deux espèces d'Aplysies viennent séjourner dans le Bassin d'Arcachon : l'*Aplysia punctata* C., que l'on trouve au printemps, et la gigantesque *Aplysia fasciata* P., que l'on trouve surtout en automne (oct.). Les prélèvements ont été effectués aussitôt après la capture des animaux et après saignée : le lot n° 1 en octobre 1932, le n° 2 en mai et le n° 3 en octobre 1933. Nos recherches ont porté sur l'hépato-pancréas, le muscle, la masse génitale, la glande à mucus, et la glande hermaphrodite.

Voici les résultats que nous avons obtenus, exprimés en grammes de glucose pour 100 grammes de tissu :

	Hépato-pancréas	Muscle manteau	Masse génitale	Glande hermaph.	Glande à mucus
	—	—	—	—	—
Septembre 1932.....	2,040	—	—	—	—
(Apl. fasciata)					
Mai.....	0,420	0,080	—	—	—
(Apl. punctata)	—	0,090	—	—	—
		0,095	—	—	—
Octobre.....	2,450	0,225 (1)	0,259	0,236	0,406 (1)
(Apl. fasciata)	2,708	0,202 (2)			0,062 (2)

On remarquera la présence constante de glycogène en quantité notable dans tous les tissus étudiés et la surcharge du foie en cette matière. L'hépato-pancréas de l'*Aplysia fasciata* paraît beaucoup plus riche en glycogène que celui de l'*Aplysia punctata*. Cette dernière était de trop petite taille pour qu'il nous ait été possible de doser le glycogène dans la masse génitale, la glande hermaphrodite et la glande à mucus.

Helix aspersa Mull.

1° Données antérieures.

L'Escargot est un Invertébré très commun dont la vie oscillante est bien connue, aussi représente-il un matériel de choix pour l'étude des variations physiologiques du glycogène. Nombreuses sont les recherches qui ont été faites dans cette direction. L'Hélix hiberne pendant tout l'hiver, de novembre à mars. Sa respiration est alors ralentie et ses échanges très diminués. D'après Léger, pendant l'hivernation, plus de 80 p. 100 des graisses, tout le glycogène et les sucres réducteurs sont localisés dans le foie. En rejetant cet organe, la majeure partie de la saveur et de la valeur nutritive du Mollusque est perdue. Pendant l'hiver, Hammarsten a trouvé dans le foie d'Escargots de vigne : 1 g. 7 p. 100 de glycogène. A la fin de mars, après réveil dans une pièce non chauffée : 0 g. 429 p. 100. D'après Barfürth, qui a étudié des Escargots dans les mêmes conditions, le glycogène disparaît du foie au moment du réveil. Il pense que la non-concordance de ses résultats avec ceux d'Hammarsten provient de ce qu'il a opéré à une température plus élevée. D'après Young, quatre ou cinq semaines après le début de l'hibernation, on ne trouve plus de glycogène dans le foie. Pendant la période d'été, Barfürth et Young ont vu, et leurs données sont concordantes à ce sujet, qu'il faut une période de jeûne de deux ou trois semaines pour constater la disparition du glycogène dans le foie. D'après Krukenberg, la disparition du glycogène par cessation de nourriture est encore plus rapide. Un jeûne d'une durée d'un à deux jours serait suffisant pour la transformation complète du glycogène en sucre, grâce à un enzyme amylolytique des cellules hépatiques. Dans le même ordre d'idées, signalons que Claude Bernard a observé la présence en quantité abondante de sucre réducteur dans le liquide contenu dans l'estomac d'Escargots à jeûn, et qu'il a admis que, chez ces êtres, le glucose sécrété par le foie passe par la voie digestive où il est résorbé, et non directement par la voie sanguine, comme chez les Vertébrés.

Hammarsten a étudié comparativement le métabolisme du glycogène chez l'Escargot actif et pendant l'hibernation. De décembre à mars, il a trouvé une teneur en glycogène constante et de valeur égale pour le foie et les autres tissus, soit : 1,8 p. 100 du poids frais et 9 p. 100 du poids sec. Au réveil, la teneur baisse à 0,4, à 0,5 p. 100 du poids frais et à 2,25 p. 100 du poids sec. Il admet que le foie renferme un peu plus de glycogène que le reste du corps. Dans le cas de réveil provoqué (chaleur, humidité), il a observé une diminution rapide du glycogène dans le foie et les muscles. Des Escargots sortant de l'hibernation, nourris pendant un mois avec de la salade, ne présentent pas d'augmentation notable de leur teneur en glycogène. Cependant, les résultats obtenus sont assez variables, car la température, le degré d'humidité, l'époque, le mode d'alimentation, jouent un grand rôle. Barfürth a recherché le glycogène dans le foie de l'Escargot. Ses travaux ont établi le rôle prépondérant du foie comme organe de dépôt de glycogène. Cherchant à savoir exactement dans quelles cellules se dépose cette substance, il a constaté, d'accord avec Brücke, que chez les Escargots, animaux riches en tissu conjonctif interacineux, le glycogène se trouve surtout dans les cellules plasmatiques, alors que l'épithélium hépatique n'en contient pas dans les conditions normales d'alimentation. Barfürth a trouvé dans le foie d'Escargot à jeun 0 g. 801 p. 100, après cinq jours d'alimentation : 2,236 p. 100. L'Helix nourri avec du pain contient 3,4 p. 100 et jusqu'à 6 p. 100 de glycogène dans le foie et 3,3 p. 100 dans le pied. De ces recherches il se dégage que l'Helix est un animal riche en glycogène dont le foie joue un rôle de réserve presque aussi important que chez les Vertébrés. Le taux du glycogène est étroitement lié à l'alimentation de l'animal, mais il dépend aussi de l'époque et de la température à laquelle l'animal est étudié. Signalons enfin que May a trouvé un nouveau polysaccharide appelé galactogène, qui constituerait 17 p. 100 des polysaccharides de l'animal, 83 p. 100 étant sous la forme de glycogène. Les œufs d'Escargots ne contiendraient que du galactogène. Cependant, May signale que cet hydrate de carbone n'est pas

attaqué par l'hydroxyde de potassium à 40 p. 100. Le procédé que nous utilisons nous permet donc de doser le glycogène seul.

2° Recherches personnelles.

Le premier lot d'Escargots que nous avons étudié était constitué par des animaux achetés au marché au début du mois de mars et qui étaient en état d'hibernation. La moitié du lot a été sacrifiée immédiatement, l'autre moitié a été conservée au laboratoire pendant un mois environ. Les animaux placés dans un cristallisoir se sont réveillés sous l'influence de l'élévation de la température au bout de deux ou trois jours. Ils ont été alors nourris avec des carottes et de la salade, jusqu'au jour où ils ont été sacrifiés (avril). Un deuxième lot était constitué par des animaux ramassés à la campagne dans le courant d'avril, que nous avons conservés au laboratoire en les alimentant de la même façon que les précédents jusqu'au début de juillet. Ces animaux avaient engraissé considérablement. Nous avons dosé le glycogène dans l'hépato-pancréas, le muscle du pied, l'appareil génital et la glande à albumen qui est alors très volumineuse. Pour les prélèvements, on enlève la coquille en découpant celle-ci à l'aide de forts ciseaux en suivant les tours de spire. Le corps étant dépouillé de son enveloppe, on fixe l'animal par le pied et on dissèque les organes à étudier.

Voici, exprimés en grammes pour 100 grammes de substance fraîche, les valeurs de glycogène qui ont été trouvées :

	Hépato-pancréas	Muscle du pied	Organes génitaux	Glande de l'albumen
	—	—	—	—
Mars.....	0,082	0,309	—	—
	3,099	0,402	—	—
	1,865	—	—	—
	1,037	—	—	—
	0,720	—	—	—
	0,920	—	—	—
Avril	2,181	—	—	—
	2,076	—	—	—
Juillet	6,500	1,800	2,818	18,190
	4,200	2,244	5,142	5,849
	—	—	5,636	—

Il ressort de l'examen de ce tableau que le glycogène existe dans tous les organes étudiés et que le foie est particulièrement riche en cette substance. Il atteint en juillet le chiffre le plus élevé que nous ayons constaté chez les Invertébrés. Le muscle du pied a alors un taux également élevé, ainsi que les organes génitaux, et surtout la glande à albumen, qui constitue un véritable réservoir de glycogène. La recherche du glycogène dans les glandes génitales et dans la glande à albumen avait été jusqu'à présent négligée; on voit que cette étude méritait d'être faite, car elle montre bien la surcharge en glycogène de l'appareil génital au moment de son plein développement.

Arion rufus.

1° Données antérieures.

Les analyses de Barfürth ont établi le rôle prépondérant du foie comme organe de dépôt de glycogène chez les Limaces. Chez ces animaux qui ont peu de tissu conjonctif, le glycogène s'accumule dans les espaces interépithéliaux du foie. On le trouve également autour de l'intestin et des canaux biliaires. Barfürth a constaté que la teneur en glycogène du tissu hépatique est étroitement liée à l'alimentation. Après un jeûne de vingt à vingt et un jours, tout le glycogène des Limaces a disparu; neuf à dix heures après nouvelle alimentation, le glycogène reparaît. Fait remarquable, c'est dans les cellules du tissu conjonctif qu'il se dépose d'abord, tandis qu'après une longue inanition, le glycogène disparaît de l'épithélium hépatique avant de disparaître des cellules du tissu conjonctif. D'après ses analyses quantitatives, Barfürth estime qu'après vingt-quatre heures d'alimentation, le foie contient dix fois plus de glycogène qu'un même poids de toute autre partie du corps. En outre, dans les mêmes conditions, le foie contient une quantité de glycogène égale à celle contenue dans tout le reste du corps.

Voici le résultat des expériences de Barfürth : 1° (après

vingt-quatre heures d'alimentation), glycogène du foie de *Limax variegatus*, 0 g. 052 pour 100 grammes de tissu frais; glycogène du reste du corps, 0 g. 0641 pour 100 grammes; 2° (après trois jours d'alimentation), dans le foie, 0 g. 376 pour 100 grammes; dans le reste du corps, 0 g. 5338.

Dans le tissu intestinal, après trois jours d'alimentation avec du pain, il a trouvé 1,6 p. 100 de glycogène. Lorsque l'alimentation est continuée, le glycogène augmente dans les autres tissus de l'organisme, de telle sorte que chez les animaux en bon état de nutrition, on trouve toujours du glycogène dans les cellules du tissu conjonctif et des parenchymes glandulaires. Ce n'est que dans le cas d'alimentation insuffisante qu'on ne trouve que des traces de glycogène dans les éléments glanduleux. Le muscle du pied de *Limax variegatus* nourri longtemps avec du pain contient du glycogène. Signalons enfin que, après alimentation avec du pain, Barfürth a trouvé du glycogène dans les glandes génitales de la Limace et dans les glandes hermaphrodites du Limaçon. Il y en avait beaucoup dans les cellules conjonctives, des traces dans les follicules clos, dans les tissus déférents, dans les canaux excréteurs de l'oviducte et de la glande albumineuse.

Pour *Arion*, les résultats des recherches ne sont pas concordants. D'après Frenkzel, Röhmann et Bottazzi, le foie d'Arion ne contient pas de glycogène. Barfürth pense qu'il n'y a pas de glycogène dans le foie, mais qu'on en trouve vraisemblablement autour de l'intestin après digestion. Krukenberg dit avoir isolé, à l'aide de la méthode de Brücke, du foie d'individus vigoureux récemment capturés de l'espèce *Arion empiricorum*, des quantités notables de glycogène authentique, et avoir constaté sa disparition rapide dans l'inanition. Un jeûne d'une durée d'un à deux jours semble suffisant pour sa transformation complète en sucre. Enfin, Cuénot a montré que les cellules de Leydig qui se trouvent répandues un peu partout, aussi bien dans les téguments que dans le tissu conjonctif des différents organes servent de réserve pour le glycogène.

2° Recherches personnelles.

Nous avons recherché le glycogène dans les organes de grosses Limaces rouges recueillies au mois de mai et alimentées pendant deux mois au laboratoire avec des carottes et de la salade. Avant de prélever les tissus, on saigne l'animal. On le fixe ensuite sur la face dorsale; la peau est incisée avec précaution à l'aide de ciseaux suivant une ligne qui longe tout le côté gauche du corps, à deux ou trois millimètres au-dessus du bord du pied. Renverser le lambeau que l'on sectionnera ensuite pour y rechercher le glycogène; prélever le foie, le pied, la masse génitale. Un lot n° 2 a été étudié en octobre, et le lot n° 3 en décembre, aussitôt après la capture. Dans le tableau qui suit, figurent les résultats que nous avons obtenus, exprimés en grammes pour 100 grammes de tissu frais.

	Hépato-pancréas	Muscle du pied	Organes génitaux
	—	—	—
Juillet.....	0,610	7,657	
	4,642	7,200	
	3,277		
	7,200		
Octobre.....	0,980		4,100
Décembre.....	1,293		3,250

De ces recherches il se dégage qu'*Arion* contient beaucoup de glycogène et que son foie joue un rôle de réserve très important. Le taux du glycogène semble lié à l'alimentation, car les animaux nourris abondamment étaient beaucoup plus riches en cette matière. L'époque doit avoir également une influence notable dans les différences que nous avons constatées. Remarquons enfin la plus forte teneur en glycogène des organes génitaux par rapport au foie en octobre-décembre.

CHAPITRE IV

ETUDE COMPARATIVE ET GENERALE

Répartition du glycogène dans les différents organes des Invertébrés.

Les faits importants qui se dégagent de l'ensemble de nos recherches sont : 1° la présence constante du glycogène dans les organes et tissus des Invertébrés étudiés; 2° la non-prédominance du foie et du muscle pour la mise en réserve du glycogène; 3° des variations saisonnières considérables en rapport avec la vie oscillante de ces êtres.

Comme on sait, chez les Vertébrés adultes, les réserves de glycogène sont localisées presque en totalité dans le foie et le muscle et ont essentiellement pour rôle d'assurer la dépense énergétique, de fournir du travail et de la chaleur. Schondörff, qui a étudié il y a longtemps (1899), la répartition du glycogène dans les tissus de Chiens en bon état, nourris avec des graisses et de la viande, a trouvé : dans le foie, 38 p. 100 du glycogène total de l'animal; dans le muscle, 44 p. 100; dans la moelle osseuse, 9 p. 100; dans la peau, 45 p. 100, et des traces seulement dans les autres tissus. On sait aussi que le taux du glycogène du foie des Vertébrés supérieurs varie beaucoup et très rapidement. Il tombe à un chiffre bas (au-dessous de 1 gramme pour 100 grammes) dans le jeûne et peut s'élever, chez des animaux nourris en abondance, jusqu'à 18 grammes. Voici quelques chiffres donnés par Ch. Richet pour le foie et le muscle : foie de Chien, de 2 g. 19 à 5 g. 18 p. 100 de glyco-

gène; muscle de Chien, 0 g.077 à 0 g. 53 p. 100; muscle de Lapin : 0 g. 417 à 0 g. 444 p. 100.

Si le rôle plastique du glycogène semble négligeable chez les Homéothermes adultes, il n'en est plus de même chez les mêmes êtres au cours de leur développement embryonnaire. A cette période, en effet, le glycogène sert surtout à l'organogénèse, de même que les réserves amylacées des graines sont utilisées en majeure partie pour la formation de la jeune plantule (Claude Bernard). On ne retrouve pas alors la même répartition du glycogène que chez l'adulte. Le glycogène est réparti dans un grand nombre d'organes. Il est considéré comme condition de développement de certains tissus chez le fœtus avant l'apparition de la fonction glycogénique du foie. Voici ce que dit Claude Bernard :

« Depuis longtemps, j'ai établi que chez les animaux adultes des classes supérieures, le foie produit de la matière glycogène. J'ai montré, en outre, que dans la vie embryonnaire, lorsque cette fonction du foie n'est pas encore établie, la matière glycogène ou ses produits ne pouvant pas être transportés convenablement par la circulation, se trouvent alors disposés d'une manière diffuse dans les organes annexes du fœtus et dans un certain nombre de ses tissus. »

A mesure que l'embryon se développe, il se produit une énorme consommation de glycogène, suivie d'une nouvelle élaboration, mais en beaucoup moins grande abondance. Le glycogène, à la fin de la vie embryonnaire, a disparu presque complètement de certains tissus, et a gagné les cellules qui constitueront les organes de localisation de l'adulte. Claude Bernard a pensé qu'il serait intéressant de voir si chez les animaux qui sont dépourvus de foie il n'existait pas quelque chose d'analogue à ce qu'on observe chez les embryons des animaux dont le foie ne fonctionne pas encore. Il a constaté que, chez les Invertébrés, ce n'est plus seulement à l'état embryonnaire qu'existe cette dissémination du glycogène; on la retrouve chez l'animal adulte ayant atteint le stade de complet développement.

Nos recherches confirment cette donnée biologique. Chez

certaines espèces seulement (*Helix*, *Arion*), le foie semble bien encore jouer le rôle d'organe de mise en réserve du glycogène, mais il n'est plus le seul réservoir de l'organisme. Les organes des autres Invertébrés contiennent souvent des quantités de glycogène supérieures à celles trouvées dans le foie ou l'hépato-pancréas (carapace molle de Crabe, organes reproducteurs de Maja, de Seiche, etc.).

Dans les tableaux qui suivent figurent les moyennes de glycogène établies aux diverses époques de l'année dans les organes étudiés : hépato-pancréas, muscle, organes divers. Dans le chapitre traitant de la surcharge en glycogène des organes reproducteurs au moment de la ponte, on trouvera les tableaux indiquant les moyennes de glycogène des organes génitaux et des œufs.

Hépato-pancréas	Sept.	Oct.	Déc.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juill.
Asterias Rubens	0,534	1,520	0,277	0,245	0,272	2,100	—	—
Paracentrotus lividus	—	0,317	—	—	—	—	—	—
Maja squinado	0,291	—	—	—	1,053	—	1,185	—
Carcinus mœnas	0,461	—	—	—	—	1,276	0,450	0,537
Astacus fluviatilis	—	—	—	—	—	—	—	0,181
Gryphea angulata	—	—	—	1,749	—	—	—	—
Ostrea edulis	—	—	—	—	—	—	—	2,700
Sepia officinalis et filiouxi — foie	0,060	0,142	—	—	—	0,038	0,042	—
Sepia officinalis et filiouxi — pancr.	—	0,119	—	—	—	0,144	0,123	—
Octopus vulgaris (foie)	0,082	0,133	—	—	—	—	—	—
Aplysia fasciata et punctata — foie	2,040	2,579	—	—	—	0,420		—
Helix aspersa	—	—	—	1,287	2,128	—	—	4,600
Arion rufus	—	0,980	1,293	—	—	—	—	3,932

Muscle	Sept.	Oct.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juill.	Août
Holothuria tubul.....	—	0,530	—	—	—	—	—	—
Sipunculus nudus....	—	—	2,874	—	—	—	—	—
Arenicola piscat.....	—	—	0,989	—	—	—	—	—
Maja squinado.....	—	—	—	0,997	—	—	—	—
Carcinus mœnas.....	0,045	—	—	—	—	0,258	0,173	—
Astacus fluviatilis...	0,045	—	—	—	—	—	—	—
Crangon vulg.....	0,023	—	—	—	—	0,029	—	—
Gryphea angulata....	—	—	0,806	—	—	—	—	—
Ostrea edulis.....	—	—	—	—	—	—	0,570	—
Sepia officinalis et filliouxi.....	—	0,114	—	—	0,050	0,259	—	—
Octopus vulgaris....	0,022	0,082	—	—	—	—	—	—
Aplysia fasciata et punctata.....	—	0,213	—	—	0,088	—	—	—
Helix aspersa.....	—	—	0,355	—	—	2,022	—	—
Arion rufus.....	—	—	—	—	—	7,428	—	—

Organes divers	Oct.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juill.
Branchies :						
Holothuria tubul.....	traces	—	—	—	—	—
Maja sq.....	—	—	1,000	—	—	—
Carcinus m.....	—	—	—	—	0,329	0,587
Gryphea a.....	—	0,931	—	—	—	—
Ostrea ed.....	—	—	—	—	—	0,271
Sepia officinalis et fillioux...	0,093	—	—	—	—	—
Octopus v.....	0,071	—	—	—	—	—
Organes fungiformes (reins) :						
Sepia officinalis et fillioux...	0,154	—	—	0,179	0,098	—
Octopus v.....	0,109	—	—	—	—	—
Cœurs branchiaux :						
Sepia officinalis.....	—	—	—	0,060	—	—
Octopus v.....	0,180	—	—	—	—	—

La surproduction et la mobilisation du glycogène à l'époque de la mue des Crustacés.

Nous avons vu, lors de notre étude sur les Crustacés décapodes, que le taux du glycogène chez ces animaux était extrêmement variable.

Des résultats que nous avons obtenus, nous pouvons conclure ceci : 1° quelle que soit l'époque du prélèvement, que l'animal soit éloigné de la mue ou au moment de muer, on trouve toujours du glycogène dans le foie; 2° le glycogène augmente beaucoup dans le foie au moment de la mue; 3° la carapace elle-même, lorsqu'elle est très molle, est très riche en glycogène. A ce moment-là, le taux est même plus élevé que celui de l'hépato-pancréas; 4° à mesure que la carapace durcit, le glycogène diminue jusqu'à disparaître complètement lorsque la carapace est dure.

Le tableau suivant montre les variations du glycogène dans les tissus de l'animal aux diverses époques de sa vie.

Carcinus mœnas.

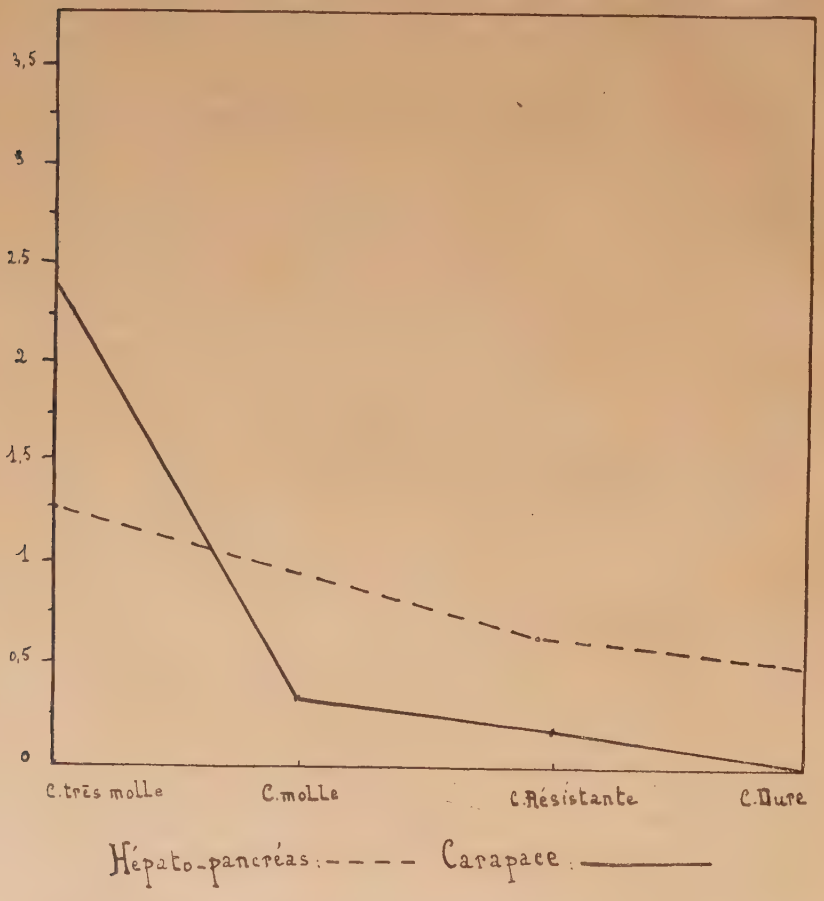
	Carapace	Hépato-pancréas	Muscle	Branchies
	—	—	—	—
Très molle...	2,977	1,275	—	—
	1,792	—	—	—
Molle.....	0,385	—	—	0,282
Résistante...	0,177	0,650	—	0,545
Dure.....	0	0,354 à 0,617	0,173 à 0,267	0,253 à 0,935

Le graphique suivant montre les variations de glycogène subies parallèlement par la carapace et l'hépato-pancréas.

Nous n'avons pas eu l'occasion de répéter nos expériences sur des carapaces molles de *Maja squinado*. Cependant, nous avons trouvé dans le tégument grisâtre placé immédiatement au-dessous de la carapace, et qui servira à l'édification de la nouvelle enveloppe tégumentaire, des quantités assez

élevées de glycogène. Cela laisse supposer que la *Maja* se comporterait de la même manière que le *Carcinus mœnas*.

D'autre part, Mme Courtois-Drilhon, qui a étudié les variations du glucose chez la *Maja squinado* pendant les diverses



phases de la mue, a constaté également une grande élévation du taux du glucose dans le sang au moment du changement de carapace et sa disparition presque complète par la suite.

Comme l'a fait Mme Courtois-Drilhon, sans vouloir mettre en parallèle des faits aussi distincts que la mue des Crusta-

cés et la métamorphose des Insectes, on ne peut manquer d'être frappé par l'analogie qui existe entre ces deux ordres de faits.

Un travail analogue s'effectue dans les tissus des animaux à cette époque critique de leur existence. Il se produit dans les deux cas une élaboration rapide et considérable de substances hydrocarbonées suivie d'un travail de synthèse qui s'opère au sein des tissus, élaboration de la nouvelle carapace d'une part, métamorphose de l'autre, qui entraînent une grande consommation de ces réserves.

La surcharge en glycogène des organes reproducteurs au moment de la ponte.

La surcharge en glycogène des organes reproducteurs au moment de la ponte est un fait que nos recherches nous ont permis de mettre en évidence et qui paraît avoir un caractère très général chez les Invertébrés. Chez l'*Asterias rubens*, tout se passe comme si les matériaux mis en réserve dans l'hépato-pancréas pendant la belle saison étaient utilisés pour la formation des produits sexuels. Le glycogène apparaît dans les glandes génitales dès le début de leur développement (déc.); il augmente ensuite beaucoup, le maximum étant atteint au moment du complet développement des glandes génitales (mai). Il y a lieu de remarquer, en outre, que la teneur en glycogène des cæcums suit la même progression et est beaucoup plus élevée au moment de la maturité des produits sexuels.

	Cæcums radiaux	Glandes génitales
Septembre.....	0,450 à 0,750	—
Décembre.....	0,112 à 0,673	traces à 0,025
Janvier.....	0,112 à 0,377	0,092 à 0,114
Avril.....	0,272	0,250
Mai.....	2,000 à 2,201	0,508 à 0,593
Octobre.....	1,520	—

Il semble en être de même chez l'Oursin (*Paracentrotus lividus*), car au mois d'octobre, période de plein développement des organes génitaux, nous avons obtenu les chiffres suivants : masse intestinale, 0,260 à 0,374; organes génitaux,

1,014 à 1,951. Chez la *Maja*, nous avons observé la surcharge progressive en glycogène des organes génitaux, en rapport avec leur développement, mais sans variation nette de la teneur en glycogène de l'hépato-pancréas. Voici les chiffres limites que nous avons obtenus :

	Hépato-pancréas	Organes génitaux
Avril	0,965 à 1,170	0,369 à 0,656
Juin	1,185	1,200 à 1,725

Si l'on étudie la *Sepia Filliouxi* pendant la période de ponte (mai-juin), on constate que les glandes nidamentaires sont très développées et que leur teneur en glycogène est bien plus forte qu'après la ponte (oct.).

	Foie	Organes nidamentaires	
		blancs	rouges
Mai	0,032 à 0,045	0,281 à 0,545	—
Juin	0,025 à 0,059	0,108	0,792
Octobre	0,116 à 0,168	0,038	—

En ce qui concerne *Helix*, la surcharge en glycogène des organes génitaux et aussi de la glande annexe (glande de l'albumine), dans laquelle nous avons rencontré la plus forte proportion de glycogène (18 g. 19 p. 100), était intéressante à signaler.

Dans le tableau suivant figurent les moyennes de glycogène observées dans les organes génitaux des animaux que nous avons étudiés pendant les diverses époques de l'année.

Organes génitaux	Oct.	Déc.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juill.
Asterias rubens	—	traces	0,103	0,250	0,561	—	—
Paracentrotus liv.	1,461	—		—	—	—	—
Maja squinado	—	—	—	0,556	—	1,462	—
Astacus fluviatilis	—	—	—		—	—	0,260
Sepia filliouxi bl.	0,038	—	—	—	0,413	0,108	—
Sepia filliouxi r.	—	—	—	—	—	0,792	—
Octopus vulgaris	0,076	—	—	—	—	—	
Helix aspersa or. g.			—	—	—	—	4,532
Helix aspersa gl. a	—	—		—	—	—	12,019
Arion rufus	4,100	3,250	—	—	—	—	

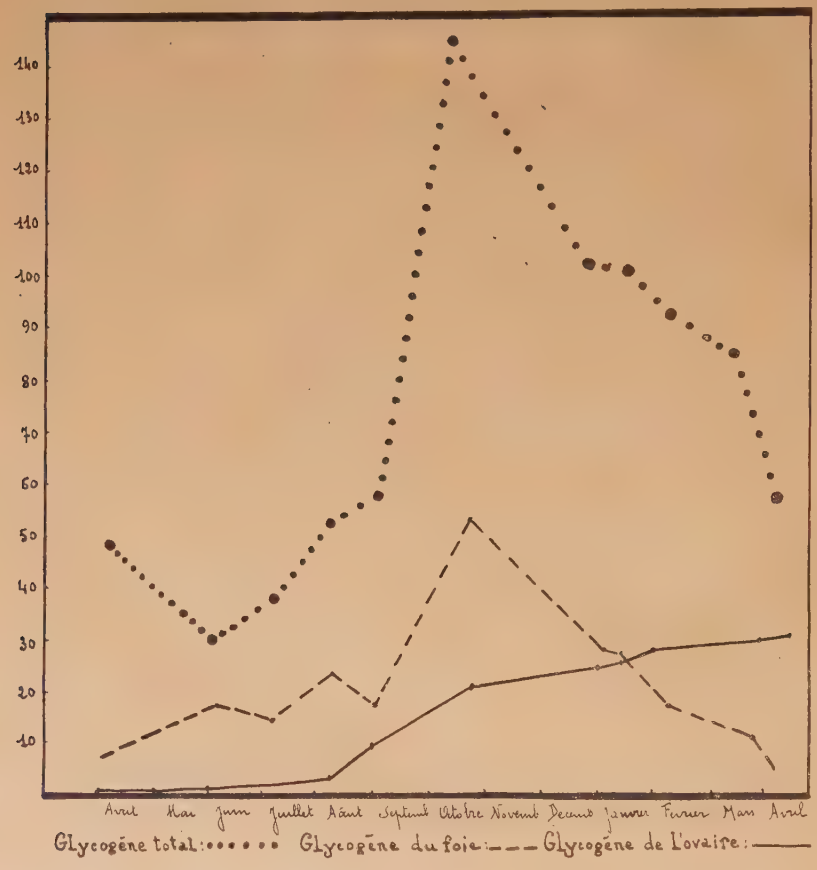
Ces faits d'ailleurs ne sont pas isolés, car, nos recherches étant terminées, nous avons eu l'occasion de prendre connaissance d'un travail de Max Bleibtreu sur le glycogène de la Grenouille, dans lequel cet auteur a observé des faits identiques à ceux que nous avons eu l'occasion de constater.

Kan Kato et Max Bleibtreu ont étudié les variations du glycogène dans le corps entier, le foie et l'ovaire de la Grenouille aux diverses époques de l'année. Ils ont vu que, pendant les mois d'automne et d'hiver, il se produit une notable plus-value du glycogène de l'ovaire (à partir des mois de septembre et d'octobre), qui se poursuit pendant les mois d'hiver (maximum en avril au moment de la ponte). Pendant ce temps, le glycogène du foie diminue beaucoup (à partir du mois d'octobre pour atteindre le minimum en avril). Pendant la même période, le glycogène total de l'animal suit la même courbe, tout en restant à une valeur plus élevée que celle du foie. Après la ponte (avril-mai-juin), il existe toujours un peu de glycogène dans l'ovaire, mais seulement des traces. C'est en juillet que le taux commence à s'élever. Voici la teneur en glycogène de l'ovaire pendant une année, exprimée en milligrammes pour 100 grammes de tissu frais : avril, 70; juin, 110; juillet, 310; août, 470; septembre, 930; octobre, 1.820; décembre, 2.040; janvier, 1.960; février, 2.500.

Dans le tableau suivant, donné par Bleibtreu, figurent les courbes de variations du glycogène total, du glycogène du foie et celui de l'ovaire.

En accord avec Kato, Bleibtreu pense que la moitié du glycogène total de l'animal passe dans les œufs. L'auteur a ensuite observé l'existence d'un parallélisme entre le poids de l'ovaire et le taux du glycogène de cet organe. Dès le début de la période sexuelle, il y a à la fois augmentation de la teneur du foie et de l'ovaire. La progression, d'abord lente, s'accélère. La courbe du glycogène de l'ovaire n'est pas brisée; elle s'élève toujours du commencement à la fin, sauf en décembre-janvier, où elle reste horizontale. D'autres observations ont enfin montré à l'auteur que d'octobre à la période de ponte, pendant que l'ovaire augmente de poids et

s'enrichit en glycogène, le foie diminue de poids et a un taux qui s'abaisse, ce qui laisse supposer que l'ovaire s'accroît aux dépens du foie. Ce sont là autant de faits que nous



avons eu personnellement l'occasion de constater chez les Invertébrés (Astérie, Maja). Que la plus grande partie des réserves de glycogène de l'animal soient utilisées en vue de la ponte, il n'y a là rien qui doive nous étonner, la principale activité de ces animaux résidant surtout dans la reproduction de l'espèce.

Sur la teneur en glycogène des œufs.

La présence du glycogène a été décelée depuis longtemps (1859) dans les œufs des Vertébrés. Athanasiu (1899) a trouvé dans les œufs de Grenouille 1 g. 1 de glycogène pour 100 grammes de tissu frais. Ses travaux ont été confirmés par Haensel (1908), Kato (1909), Bleibtreu (1910), Fauré-Fremiet (1921) et Goldfederova (1925). En accord avec Kato, Bleibtreu pense que la moitié du glycogène total de la Grenouille passe dans les œufs. Comme l'a vu M. Nusbaum, le fait que les œufs de Grenouilles reçoivent de l'organisme maternel de très grandes quantités de matériel, sous forme de glycogène, montre que ce corps joue un rôle important pour la nutrition de l'embryon. Voici les teneurs en glycogène trouvées dans les œufs à l'époque de la ponte : œufs dans l'utérus, 153 mg. 4 de glycogène p. 100 de substance fraîche; œufs pondus, 187 mg. 7 p. 100. Sakuragi (1917), qui a recherché le glycogène contenu dans l'œuf de poule, a trouvé : 3,2 p. 100 de glycogène dans l'albumine de l'œuf et 2,2 p. 100 dans le jaune. Fauré-Fremiet et Mlle Garrault, qui ont recherché le glycogène dans l'œuf de Truite, n'ont pu le déceler, mais ils ont trouvé 0,340 p. 100 de sucre réducteur, qu'ils ont dosé comme glucose. Green, étudiant l'œuf de Saumon, aurait trouvé des quantités encore moindres.

La découverte du glycogène dans les œufs des Invertébrés est de date déjà ancienne. La présence de cette matière dans les œufs des Insectes et des Mollusques a été signalée par Claude Bernard dès le début de ses travaux (1859); Balbiani (1873) l'a identifiée dans les embryons des Araignées, Krukenberg dans les œufs de Fourmis. Tichominoff, en 1885, qui a étudié la proportion du glycogène avant et après l'hibernation chez le *Bombyx Mori*, conclut à une utilisation de ce glucide pendant la vie embryonnaire. En 1906, Vaney et Maignon ont repris cette étude, qui a été elle-même complétée en 1908 par Vaney et Conte. Voici les résultats obte-

nus par ces auteurs : œufs de quatre jours, 2 g. 41 pour 100 grammes de substance fraîche; œufs de sept jours : 1 g. 25 pour 100. Après hibernation (un an après la ponte), 1 g. 84 p. 100. Au moment de l'éclosion : 0 g. 415 p. 100. Il y a donc, comme l'avait indiqué Tichominoff, une brusque consommation de glycogène, au début de la vie embryonnaire, suivie d'une nouvelle élaboration, enfin une diminution rapide de cette réserve au moment de l'éclosion. Moore, Whitley et Adams, qui ont recherché le glycogène dans les œufs des Echinodermes, ont trouvé pour *Echinus esculentus* 1 g. 630 pour 100 grammes de substance fraîche; Dalcq (1923) a dosé 20 milligrammes de glycogène pour 100 grammes dans les œufs d'*Asterias glacialis*. Brammertz et Kurkiewicz (1928-1931) ont étudié la fonction glycogénique du noyau cellulaire au cours du développement des œufs d'Oursins. Leurs recherches ont porté sur le *Sphœrechinus granularis* et le *Paracentrotus lividus*. D'après ces auteurs, les œufs seraient complètement dépourvus de glycogène. Cette substance apparaît après la fécondation et s'élabore jusqu'au stade de blastula. A mesure que le développement se poursuit, la teneur des cellules en glycogène diminue et devient à peu près nulle quand l'embryon est au stade de blastula cilié, c'est-à-dire au moment où l'organisme, qui jusqu'alors ne prenait au milieu ambiant que de l'eau, de l'O^2 et des sels, commence à faire entrer des substances organiques dans son alimentation. En accord avec Brammertz Kurkiewicz constata que les œufs mûrs de ces animaux ne contiennent plus du tout de glycogène.

Dans les œufs de Tænias, Brault et Loeper (1904), Busch (1905), n'ont décelé que des traces de glycogène. Brault et Loeper n'a pas trouvé de glycogène dans les œufs d'*Ascaris*; par contre, Busch a constaté sa présence surtout lorsqu'ils ne sont pas encore mûrs. Il convient enfin de signaler les travaux de Kurkiewicz et de Marie Dyrdowska, qui ont étudié les variations du glycogène chez l'*Ascaris megalocephala* à l'état normal et dans une atmosphère d'azote.

Claude Bernard, qui a étudié le développement de l'Huître embryonnaire, dit :

« Les Huîtres présentent dans les premiers temps de leur vie les mêmes phénomènes que nous avons observés chez d'autres embryons, c'est-à-dire que la matière glycogène, à l'époque où le foie n'existe pas encore, se trouve rassemblée dans des organes transitoires qu'on peut appeler des annexes de l'embryon. »

Nos recherches personnelles ont porté sur le dosage du glycogène dans les œufs des Echinodermes (*Paracentrotus lividus*), des Crustacés (*Maja*, *Crangon*), et de Mollusques Lamellibranches (*Ostrea edulis*) et Céphalopodes (*Sepia Filliouxi*). Toujours nous avons trouvé la matière glycogène, mais en proportion variable. Il nous a semblé, sans que nous puissions cependant rien affirmer à ce sujet, que lorsque l'œuf approche de la maturité, la teneur en glycogène diminue.

Voici les chiffres limites que nous avons obtenus, exprimés en grammes pour 100 grammes d'organe frais :

Œufs de *Paracentrotus lividus* : Traces (oct.).
Œufs de *Maja squinado* : 0,256 à 0,377 (sept.).
Œufs de *Crangon vulgaris* : 0,088 à 0,110 (sept.).
Œufs d'*Ostrea edulis* : 0,021 à 0,040 (juill.).
Œufs non mûrs de *Sepia Filliouxi* : 0,308 à 0,507.
Œufs mûrs de *Sepia Filliouxi* :
embryon : 0,144 à 0,500;
poche nutritive : 0,281 à 0,290;
coque noire : 0,031 à 0,060.

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES

Nos recherches ont eu pour but de préciser nos connaissances : 1° sur la présence et l'importance quantitative du glycogène dans les principaux organes d'Invertébrés choisis dans tous les groupes (à l'exception des Insectes); 2° sur les variations saisonnières du taux du glycogène. Elles nous ont conduit à mettre en évidence un fait nouveau, dont il est inutile de souligner l'intérêt biologique, la surcharge en glycogène des organes de la reproduction au moment de la ponte.

Après avoir donné un aperçu historique des nombreux travaux relatifs au glycogène chez les Invertébrés (chap. I), nous avons exposé (chap. II) la technique que nous avons utilisée pour la récolte des matériaux d'étude et pour le dosage du glycogène. Les Invertébrés étudiés ont été, pour le plus grand nombre, des Invertébrés marins que nous avons pu obtenir dans de bonnes conditions grâce à la proximité de la Station biologique d'Arcachon où nos prises ont été faites. Nous avons aussi fait quelques recherches sur des Invertébrés d'eau douce (Ecrevisse) et terrestre (Escargot, Limace). Dans l'embranchement des Echinodermes, nous avons étudié l'Astérie, l'Oursin et l'Holothurie; dans celui des Vers, le Siponcle et l'Arénicole; chez les Crustacés, l'Araignée de mer, le Crabe commun et l'Ecrevisse; chez les Mollusques Lamellibranches, l'Huître; chez les Mollusques Céphalopodes, la Seiche et le Poulpe, et enfin dans le groupe des Gastéropodes, l'Aplysie, l'Escargot et la Limace rouge. A diverses époques de l'année, nous avons soumis systématiquement à l'analyse les principaux organes de ces Invertébrés : foie ou hépato-pancréas, muscle, branchies, organes fungiformes (Céphalopodes), organes reproducteurs, etc.

Pour le dosage du glycogène, nous avons utilisé la méthode classique de Pflüger que nous avons légèrement modifiée en vue de l'adapter à l'échelle microchimique. Nous rappellerons en quelques mots ce procédé exact qui nous a donné toute satisfaction : dissolution à 100 degrés des tissus par l'hydroxyde de potassium; précipitation du glycogène par l'alcool; transformation par hydrolyse acide du glycogène isolé et purifié en glucose et dosage du glucose par le procédé Bertrand-Michaëlis. La principale modification que nous avons apportée à la méthode de Pflüger consiste en la substitution de la centrifugation à la filtration, procédé plus rapide et plus exact, car il évite les pertes.

Dans le chapitre III on trouvera l'exposé analytique de nos résultats, ainsi que les résultats obtenus par ceux qui nous ont précédée. Ayant tiré au fur et à mesure les conclusions qui découlent de nos dosages, il ne nous restera maintenant qu'à dégager rapidement les faits les plus importants que nous avons eu personnellement l'occasion de constater.

Nous avons trouvé d'une manière constante la matière glycogène dans les tissus des Invertébrés. Ce fait était connu depuis Claude Bernard, mais alors que les travaux de la plupart de nos devanciers ont porté presque uniquement sur la présence de glycogène dans le foie et le muscle, nos recherches, étendues à d'autres organes, ont mieux mis en évidence la diffusion du glycogène. C'est ainsi que, en dehors du foie et du muscle, on en trouve en quantité notable dans les branchies des Céphalopodes et des Crustacés, dans les organes reproducteurs (Astérie, Maja, Seiche), dans les œufs, les téguments destinés à former la nouvelle carapace des Crustacés au moment de la mue, etc.

Le taux du glycogène varie beaucoup pour un même animal suivant les divers organes. Dans l'hépato-pancréas et les organes génitaux, on trouve souvent un chiffre beaucoup plus élevé que dans le muscle ou les branchies. La teneur en glycogène des tissus est elle-même susceptible de varier avec l'alimentation et l'état sexuel de l'animal. Des Escargots ou des Limaces abondamment nourris voient leur gly-

cogène augmenter dans de notables proportions, alors qu'un jeûne prolongé le fait baisser beaucoup. Ces constatations avaient été faites avant nous, mais en dehors du facteur alimentation, il en est d'autres, en particulier le facteur activité sexuelle, dont on n'a pas tenu suffisamment compte. La vie oscillante des Invertébrés a pour effet d'entraîner des variations considérables du glycogène dont on ne peut saisir l'amplitude que par une étude systématique au cours de l'année.

De l'ensemble des faits que nous avons observés, il se dégage que, chez les Invertébrés, le glycogène joue un rôle plastique important. Cette matière apparaît en plus grande abondance et s'accumule dans les tissus en voie de développement. On observe une surcharge de glycogène au fur et à mesure de la croissance des organes, puis une diminution lorsque leur plein développement est atteint. A l'appui de cette opinion, nous pouvons citer deux faits, dissemblables en apparence, mais analogues en ce sens que dans les deux cas le glycogène joue le même rôle plastique : formation de la carapace lors de la mue chez les Crustacés et développement des organes reproducteurs au moment de la ponte.

La présence du glycogène dans le foie des Crustacés, son abondance au moment de la mue et sa disparition par la suite ont été signalées par Claude Bernard, Kirch et Verne. Nous avons eu l'occasion de constater les mêmes variations; cependant, nous avons vu que la teneur en glycogène du foie n'était pas seule intéressante. Comme l'a déjà montré Verne, les téguments qui forment la matrice de la nouvelle carapace sont, à ce moment-là, le siège de modifications importantes, en ce sens qu'ils deviennent très riches en glycogène. Lors de la chute de la carapace, les téguments encore mous qui constituent la nouvelle enveloppe sont très riches en cette matière. A mesure que les téguments durcissent, le glycogène diminue, étant utilisé pour l'édification (formation de la chitine). Il a complètement disparu lorsque la nouvelle carapace est devenue dure.

Les variations du glycogène dans le foie sont parallèles à celles des téguments, c'est-à-dire que le taux du glycogène

dans le foie est maximum au moment de la mue et qu'il diminue par la suite pour redevenir normal lorsque la période critique est terminée.

La présence et les variations du glycogène dans les organes reproducteurs ont particulièrement retenu notre attention. Nous avons montré que le glycogène augmente dans les glandes sexuelles à mesure qu'elles se développent (Astérie, Seiche, Maja, Hélix), et atteint le taux maximum au moment de la ponte. Il y a lieu enfin de remarquer que la teneur en glycogène du foie ou de l'hépato-pancréas paraît suivre dans bien des cas la même progression; elle est beaucoup plus élevée au moment de la maturité des produits sexuels.

Alors que le glycogène en surcharge dans les téguments des Crustacés au moment de la mue est vraisemblablement utilisé pour former la chitine de la carapace, le glycogène en surcharge dans les organes génitaux semble utilisé pour la formation des produits sexuels, car ceux-ci en contiennent une quantité notable. Chez les Invertébrés, le glycogène jouerait donc un rôle plastique important dans la reproduction, ce qui est conforme à la doctrine de Claude Bernard, relative à l'universalité de la fonction glycogénique et à sa nécessité dans la nutrition générale, aussi bien pour les animaux que pour les plantes.

Vu, pour le Doyen :
L'Assesseur,
J. GUYOT.

Vu, bon a imprimer :
Le Président,
H. DELAUNAY.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 9 mars 1934.
Le Recteur de l'Académie,
A. TERRACHER.

BIBLIOGRAPHIE

Balbiani. — *Ann. des sc. nat. zool.*, sér. 5, t. XVIII, p. 29, 1873.

Barfurth. — Vergleichende histochemische Untersuchungen über das Glycogen. *Arch. für mikr. Anat.*, t. XXV, p. 259, 1885.

Bernard (Claude). — De la matière glycogène chez les animaux dépourvus de foie. *C. R. Soc. de biol.*, t. II, 1859.

— Glycogénèse animale. *C. R. Soc. de biol.*, t. XXV, 1873.

— Diabète et glycogénèse, 1877.

— Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux, 2 vol., 1878-1879. J.-B. Baillière.

Biedermann (W.). — Handbuch der vergleichenden Physiologie. 2 Band., Jena, G. Fischer, 1924.

Bierry (H.) et Gruzenska (Mme). — Nouvelle méthode de dosage du glycogène dans le foie. *C. R. Ac. des Sc.*, t. CLV, p. 1558, 1912.

— *Ibid.*, t. CLVI, p. 1493, 1913.

Bizio. — *C. R. Acad. des Sc.*, t. LXII, p. 675, 1866.

— *Ibid.*, t. LXV, p. 75, 1867.

Bleibtreu (Max). — Weitere Untersuchungen über das Verhalten des Glykogens im Eierstock der Rana fusca. *Pfluger's Arch. für Physiol.*, t. CXLI, 1911.

Bottazzi (E.). — Contributi alla fisiologia comparata della digestione. *Arch. ital. de biol.*, t. XVIII, p. 477, 1901.

Boyland (E.). — Chemical changes in muscle. *Bioch. Journ.*, t. XXII, p. 237-362, 1928.

Boutan. — Zoologie descriptive.

Brault (A.). — Le glycogène dans le développement des tumeurs des tissus normaux et des êtres organisés. Masson et Cie, Paris, 1930.

Brault et Loeper. — Glycogène dans certains parasites. *Journ. de physiol. et de path. gén.*, t. VI, p. 503, 1904.

Busch (P.-W.-C.-M.). — Sur la localisation du glycogène chez quelques parasites intestinaux. *Arch. internat. de physiol.*, t. III, p. 49, 1905.

Chittenden. — Ueber das glycogen und glycocoll im Muskelgewebe von Pecten irridians. *Ann. der Chem. und Pharm.*, t. CLXXVIII, 1875.

Cori (C.-F.) et Cori (G.-T.). — Carbohydrate Metabolism. *Ann. Review of Biochem.*, 1933.

Cori (G. T.). — *Journ. Biol. Chem.*, t. XCVI, p. 259, 1932.

Courtois-Drilhon (Mme Andrée). — Etudes biochimiques sur la métamorphose des Lépidoptères. Extrait des *Ann. de physiol. et de physico-chimie biol.*, t. VII, n° 4, 1931.

— Le glucose et la mue des Crustacés. *C. R. Ac. des Sc.*, t. CXCVI, p. 506, 1933.

Cuénot (L.). — Contribution à la faune du Bassin d'Arcachon. *Bulletin de la Station biologique d'Arcachon*, t. XXIV, 1927.

Deflandre (Mlle C.). — La fonction adipogénique du foie dans la série animale. *Journ. d'anat. et de physiol.*, 1904.

Dyrdowska (Marie). — Recherches sur le comportement du glycogène et des graisses dans les œufs d'*Ascaris mégalocéphala* à l'état normal et dans une atmosphère d'N. *C. R. Soc. de biol.*, t. CVIII, 1931.

Erhard et Zieglwallner. — *Zeit. f. Biol.*, t. LVIII, p. 541, 1922.

Fauré-Frémiet (E.). — Constitution de l'œuf de *Sabellaria alveolata*. *L. C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXXIII, p. 1023, 1921.

— Le cycle germinatif chez l'*Ascaris megalocephala*. *Arch. d'anat. miscroscop.*, t. XV, 1913.

Fauré-Frémiet et Garrault (H.). — Constitution de l'œuf de Truite. *C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXXIV, p. 1375, 1922.

Foster (P.). — *Proceed. of the Roy. Soc. London*, t. XIV, p. 543, 1865.

Good, Kramer et Somogyi. — The determination of glycogen. *Journ. Biol. Chem.*, t. C, p. 485, 1933.

Henze (M.). — Beiträge zur Muskelchemie der Octopoden. *Zeit. für physiol. Chem.*, t. XLIII, 1904-1905.

— *Zeit für physiol. Chem.*, t. LV, p. 433, 1909, et t. LXXXII, p. 417, 1912.

Henze et Starkenstein (E.). — Ueber den Nachweis von Glykogen bei Meeresmollusken, 1912. *Zeit. für physiol. Chem.*, t. LXXXII, p. 417, 1912.

Holmes (E. G.) and Gerard (R. W.). — *Bioch. Journ.*, t. XXIII, p. 738, 1929.

Kilborn (L. G.) and Mac Leod (J. J. R.). — Observations on the glycogen content of certain Invertebrates and Fishes.

— *Quart. Journ. of exp. Physiol.*, t. XII, p. 317, 1920.

Kirch (J. B.). — Das Glykogen in den Geweben des Flusskrebses Inaug Diss. Bonn., 1886.

Kobert (R.). — Ueber die Enzyme wirbelloser Tiere. *Pflüger Arch.* t. XCIX, 1903.

Krukenberg. — Versuche zur. vergl. Phys. der Verdauung. Unter such. aus. dem. phys. Inst. Heidelberg, 1878.

— *Vergleichend physiol. Studien. V. Abtheil*, p. 38.

Kurkiewicz (T.). — Sur le glycogène pendant la division cellulaire (note préliminaire). *C. R. Assoc. des anat.*, 23e r., p. 265, Prague, 1928.

— Sur la fonction glycogénique du noyau cellulaire au cours du développement des œufs d'Oursins. *Bull. de l'Assoc. des anat.*, t. XXVI, p. 343, 1931.

Lawrence (R. R.) and Mc Cance (R. A.). — *Bioch. Journ.*, t. XXV, p. 570, 1931.

Léger (L.). — Sur la valeur nutritive de l'Escargot (*Helix pomatia L.*). *C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXXIX, 1924.

Michaelis (L.). — Eine Mikroanalyse des Zuckers im Blut. *Biochem. Zeit.*, t. LIX, 1914.

Mollaret. — De l'action de l'Insuline sur l'équilibre azoté du Chien normal. Thèse doct. méd., 1932.

Moore, Whitley et Adams. — *Biochem. Journ.*, t. VII, p. 127, 1913.

Needham (J.). — The unfertilised egg as a physico-chemical system. *Chemical Embryology*, t. I, p. 356, 1931.

Osterberg (A. E.). — The estimation of glycogen in small amounts of tissues. *Journ. Biol. Chem.*, t. LXXXV, p. 97, 1929.

Pflüger. — *Dictionnaire de physiologie*, par Richet. Article « Glycogène », t. VII, p. 228, 1907.

— Eine neue Méthode der Glykogenanalyse. *Pflügers Arch.*, t. CXIV, p. 242, 1906.

Picard (P.). — Observations sur la glycogénie chez un certain nombre d'animaux marins. *C. R. Soc. de biol.*, t. XXVI, p. 355, nov. 1874.

— *Gaz. méd. de Paris*, p. 618, 1874.

Polimanti (O.). — Sur le contenu de graisse dans le foie de quelques Sélaciens durant la gestation. *Arch. ital. de biol.*, t. LX, p. 466, 1913.

Röhmann. — Einige Beobachtungen über Verdauung der Kohlehydrate bei Aplysien. *Centr. für Physiol.*, t. XIII, p. 455, 1899.

Sahyun (M. J.). — Determination of glycogen in tissues. *Bioch. Chem.*, t. XCIII, p. 227, 1931.

Verne (J.). — Note histochimique sur le métabolisme du glycogène pendant la mue chez les Crustacés. *C. R. Soc. de biol.*, t. XC, 1924.

Weinland (E.). — Ueber den Glykogengehalt einiger parasitischer Würmer. *Zeits. für Biol.*, t. XLI, 1901.

— Ueber die Bildung von Glycogen aus Kohlehydraten bei Ascaris. *Zeits. für Biol.*, t. XLIII, 1902.

18.346. — Bordeaux, Imprimerie-Librairie de l'Université, 6, pl. St-Christoly. — 1934